

TEXTURIZADO DE MANGA

Impacto do processamento na componente de aroma

Cláudia Yong Dias Carvalho

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Engenharia Alimentar - Processamento de Alimentos

Orientador: Professor Doutor Vítor Manuel Delgado Alves [ISA-UL]

Coorientador: Professora Doutora Margarida Gomes Moldão Martins [ISA-UL]

Júri:

Presidente - Doutora Maria Luísa Lopes de Castro e Brito, Professora Auxiliar com Agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais - Doutora Maria Paulina Estorninho Neves da Mata, Professora Auxiliar da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa;

- Doutor Victor Manuel Delgado Alves, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Agradecimentos

A realização do presente trabalho contou com a colaboração de diversas pessoas ao longo do seu desenvolvimento. A todos os que de algum modo deram o seu contributo para a realização do mesmo, um sincero obrigado.

- Ao orientador Professor Vítor Alves, pela disponibilidade, esclarecimento de dúvidas, orientações, ensinamentos transmitidos, auxílio na análise de dados, pelo incentivo ao longo de todo o trabalho e pelas correções imprescindíveis.
- À coorientadora Professora Margarida Moldão, pela igual disponibilidade, esclarecimento de dúvidas, orientações, ensinamentos transmitidos, pelas sugestões com vista a enriquecer o presente trabalho e pelo auxílio com a análise estatística.
- À doutoranda Florina Danalache, sem a sua preciosa colaboração não teria sido possível realizar o presente trabalho. Pelo apoio e amizade, pelos ensinamentos transmitidos, por toda a disponibilidade, pelo esclarecimento de dúvidas e pelo auxílio prestado sempre que necessário.
- À doutoranda Joaquina Pinheiro, pela enorme paciência e disponibilidade, por todos os ensinamentos, instruções e sugestões imprescindíveis, nomeadamente sobre a cromatografia gasosa. Pelo encorajamento, amizade e pela ajuda prestada.
- À Frubaça, pela disponibilização do equipamento das altas pressões hidrostáticas, para a realização das respetivas amostras.
- À Engenheira Carla, por todo o auxílio na realização da análise microbiológica.
- Aos meus colegas e amigos, Tânia Fernandes e Fábio Machado, pelos desabafos, ânimo e sobretudo pela revisão e honesta opinião sobre o trabalho.
- Às minhas colegas e amigas, Cátia Ribeiro e Inês Andrade, pela ajuda com a análise estatística e formatação, respetivamente. Assim como pela enorme disponibilidade e pelas apreciações prestadas.
- À Marlita Nobre e João Pereira, pelo companheirismo, auxílio e incentivo aquando da realização do trabalho laboratorial, e não só.
- Ao Rodrigo Braz, por toda a paciência, apoio, carinho e incentivo constante. Pelo auxílio prestado e pela sincera opinião ao longo do presente trabalho.
- À minha família, amigos e colegas pela paciência, apoio e amizade constante durante todo o percurso académico, especialmente nesta fase final.

Resumo

O objetivo deste trabalho consistiu na análise dos compostos de aroma responsáveis pelo *flavour* de um produto texturizado de manga, designadamente terpenos, lactonas, aldeídos e álcoois, avaliando-se o impacto dos processamentos aplicados: tratamento térmico para inativação de enzimas, texturização com gelano, aplicação de revestimento comestível e dois processos de conservação. Utilizou-se como método analítico a cromatografia gasosa em conjunto com a técnica de microextração em fase sólida.

O produto em desenvolvimento consiste numa barra de puré de manga texturizado com o hidrocolóide gelano, aplicado com uma concentração de 1% em relação ao puré de manga. Esta percentagem é constituída por gelano de baixo e alto acilo, na razão 25/75 respetivamente. O produto apresenta ainda um revestimento comestível composto por 1% de gelano na proporção 90/10 baixo acilo/alto acilo.

O tratamento térmico para inativação de enzimas acarretou uma diminuição da maioria dos compostos do puré de manga. A texturização deste último demonstrou uma libertação dos aromas semelhante à do puré de manga não texturizado. O revestimento comestível aplicado na superfície do produto manifestou capacidade de retenção para um escasso número de voláteis.

Os processos de conservação aplicados, altas pressões hidrostáticas e tratamentos térmicos, demonstraram efeitos idênticos não alterando significativamente o perfil volátil da barra. Microbiologicamente esta revelou-se estável e ambos os processos foram eficientes no controlo microbiológico.

Palavras-chave: manga, gelano, cromatografia gasosa, compostos voláteis, aroma, processamento.

Abstract

The aim of this study was the analysis of volatile compounds responsible for the flavour of a texturized mango product, namely terpenes, lactones, aldehydes and alcohols, evaluating the impact of the processing applied: thermal treatment to inactivate enzymes, texturization with gellan gum, application of an edible coating and two conservation processes. The analytical method used was gas chromatography combined with the technique of solid phase microextraction.

The product under development consists in a bar of mango puree texturized using the hydrocolloid gellan gum, matching 1% of the weight of the mango puree. This percentage is composed by gellan low and high acyl, with the ratio 25/75, respectively. The product also has an edible coating, comprised by 1% of gellan gum which is formed with a 90/10 low acyl/high acyl ratio.

The thermal treatment to inactivate enzymes of mango puree caused a decrease of most volatile compounds. The texturized mango puree has exhibited an ability to release the volatiles, similar to mango puree. The edible coating applied to the surface of the texturized product showed retention capacity for a small number of volatiles.

The applied conservation processes, high hydrostatic pressures and thermal treatments, showed similar effects and didn't change the volatile profile of the bar significantly. Microbiologically the product proved to be stable and both conservation treatments applied were effective in microbiological control.

Key words: mango, gellan gum, gas chromatography, volatile compounds, flavour, food processing.

Extended Abstract

This work was carried out in a collaboration with a doctoral project, consisting in the formulation of a product in the form of a texturized mango puree bar jellified with the hydrocolloid gellan gum, which is under development. The aim is to develop a practical and convenient product that features fresh fruit, thus going accord with the current consumer's desire.

The selected mango variety was Palmer from Brazil and the percentage of gellan gum added to the gelling process was 1% of the raw material which is the mango puree. This percentage was formed with a 25/75 gellan gum low acyl /high acyl ratio resulting in a gel with intermediate texture properties. In addition, the product has an edible coating composed by 1% of gellan gum in the ratio 90/10 low acyl/high acyl.

The loss of compounds responsible for aroma during food processing operations is one of the major problems in the food industry. This work aims to analyze the volatile compounds responsible for the flavour of the given product and to evaluate the effect of processing on the aroma profile.

The chosen analytical method was gas chromatography combined with a solid phase microextraction (SPME) technique. The extraction of volatile compounds was performed with the samples at 60° C, and adsorption was made by a PDMS (polydimethylsiloxane) fiber for 30 minutes. These conditions were defined through an optimization of the method, where the samples were evaluated at two adsorption times and temperatures, 15 and 30 minutes, 40° and 60° C, respectively.

The volatile compounds identified were the monoterpenes: 3-carene, α -terpinolene and menthone; the lactones: γ -decalactone, γ -octalactone and γ -undelactone; the aldehydes: 2,4-nonadienal and decanal, and finally the alcohols: α -terpineol, geraniol and nerol.

It was assessed the impact of the thermal treatment for inactivation of enzymes (85°C/20s) of the mango puree, then the impact of the matrix created by the gellan gum jellification and subsequently the impact of the edible coating applied on the bar's surface on the volatile compounds. These last two studies spanned for a time period of 9 days in storage in order to determine whether the gel matrix and the edible coating enabled the preservation of the flavour for a longer period of time. The effect of two conservation treatments was also studied, in the texturized mango bar's volatile profile, as well as microbiological control, by performing a counting of mesophyll and fungi/yeasts. The preservation treatments to which the texturized mango bar was subjected was high hydrostatic pressures which were applied at 500 MPa for

120 seconds and 240 seconds and thermal treatment under the conditions of 80° C and 90° C for 2 and 5 minutes.

The results showed that the thermal treatment to inactivate enzymes of the mango puree causes a decrease in the majority of volatile compounds, although not very intense. The texturized product has an aroma release very similar to that of mango puree enzymatically inactive, resembling fresh tasting fruit in terms of flavour. Regarding the edible coating for a small number of volatile compounds (2 out of 11) there is an observation of a certain retention capacity, but it mostly does not reveal the desired effect in respect to volatile compounds retention, thus not extending flavour preservation.

The effect of the applied conservation processes, high hydrostatic pressures and thermal treatments, on the volatile compounds were similar and not too significant, however, high hydrostatic pressures revealed less invasive consequences when compared to the thermal treatments, which showed more pronounced effects on the content of the studied volatile compounds. Microbiologically the product proved to be stable, showing that the thermal treatment for enzymatic inactivation applied to the mango puree might be enough for that purpose. Yet, both conservation treatments applied can be used to achieve an effective microbiological control, so treatments with the milder conditions might be the best option for the control of possible microbiological contaminations of this product.

Key words: mango, gellan gum, gas chromatography, volatile compounds, flavour, food processing.

Índice

Agradecimentos	I
Resumo.....	II
Abstract.....	III
Extended Abstract	IV
Índice figuras.....	VIII
Índice tabelas	X
1. Introdução e objetivos	1
2. Enquadramento teórico	3
2.1. Barras de fruta	3
2.2. Gelano	4
2.3. Manga.....	9
2.3.1. Caracterização botânica	9
2.3.2. Composição química	10
2.3.3. Compostos de aroma.....	13
2.4. Processos de conservação	18
2.4.1. Altas Pressões Hidrostáticas.....	18
2.4.2. Tratamento Térmico.....	19
2.5. Método de análise de compostos de aroma.....	20
2.5.1. Headspace.....	21
2.5.2. Microextração em fase sólida.....	21
3. Desenvolvimento Experimental	23
3.1. Materiais	23
3.2. Métodos de preparação das amostras	24
3.2.1. Puré de manga fresco e tratado termicamente para inativação de enzimas.....	24
3.2.2. Puré de manga inativado texturizado (barra)	25
Amostras de puré texturizado sem revestimento comestível	25
Amostras de puré texturizado com revestimento comestível	26
Barras de puré texturizado com revestimento comestível para o estudo do efeito do processo de conservação	27
3.2.3. Amostras de gelano	28
3.3. Estudo do impacto da matriz gel criada pelo gelano e do revestimento comestível na libertação dos compostos de aroma ao longo do tempo de armazenamento	29

3.4. Estudo do impacto de dois processos de conservação no perfil de aroma e na carga microbiana da barra texturizada com revestimento comestível	30
3.4.1. Altas pressões hidrostáticas.....	30
3.4.2. Tratamento térmico.....	30
3.5. Métodos analíticos	31
3.5.1. Estabelecimento do método para análise dos compostos de aroma	31
3.5.2. Estudo do impacto do tratamento térmico para inativação de enzimas nos compostos de aroma	33
3.5.3. Estudo da liberação de compostos de aroma a partir da barra sem e com revestimento comestível ao longo do tempo de armazenamento.....	33
3.5.4. Estudo do impacto dos processos de conservação no perfil de aroma	34
3.5.5. Impacto dos processos de conservação na carga microbiológica	34
Contagem de mesófilos.....	35
Contagem de fungos e leveduras.....	35
3.5.6. Medição pH e teor de sólidos solúveis	35
3.5.7. Tratamento estatístico.....	35
4. Resultados e Discussão	36
4.1. Estabelecimento do método para a análise dos compostos de aroma	36
4.2. Estudo do impacto do tratamento térmico para inativação de enzimas nos compostos de aroma	41
4.3. Estudo do impacto da matriz gel criada pelo gelano na liberação dos compostos de aroma ao longo do tempo de armazenamento.....	43
4.4. Estudo do impacto da aplicação de um revestimento comestível na barra texturizada na liberação dos compostos de aroma ao longo do tempo de armazenamento	48
4.5. Estudo do impacto dos processos de conservação no perfil de aroma e na carga microbiana	53
4.5.1. Impacto no perfil de aroma	53
4.5.2. Efeito na carga microbiológica	60
5. Conclusões finais	62
6. Sugestões de trabalho futuro	64
7. Referências bibliográficas	65
ANEXOS	71
Anexo I	72
Anexo II	74
Anexo III	79
Anexo IV	80
Anexo V	84
	VII

Índice figuras

Figura 1 - Consumo de Frutos per capita em Portugal no período 1989-2003.....	1
Figura 2 - Estrutura do gelano alto acilo.	5
Figura 3 - Estrutura do gelano baixo acilo.	6
Figura 4 - Modelo de gelificação do gelano:	7
Figura 5 - Manga Palmer do Brasil.	10
Figura 6 - Frascos antes e durante o equilíbrio entre a amostra e headspace.....	21
Figura 7 - Equilíbrio dos compostos voláteis entre as três fases: amostra, headspace e fibra SPME.....	22
Figura 8 - Amostras: Puré fresco (à esquerda) vs. Puré inativado (à direita).	24
Figura 9 - Amostras: Puré inativado (à esquerda) vs. Puré inativado texturizado (à direita).	26
Figura 10 - Amostras: Puré texturizado sem revestimento (à esquerda) vs. Puré texturizado com revestimento (à direita).	27
Figura 11 - Medição da espessura do revestimento através de um micrómetro.	27
Figura 12 - Barras com revestimento e embalagem utilizada.	28
Figura 13 - Amostras de gelano: gel com 1% de gelano 25/75 ba/aa e adicionalmente com 1.5ml de revestimento de gelano ba/aa 90/10 (dois frascos à direita).	29
Figura 14 - Equipamento de altas pressões hidrostáticas.....	30
Figura 15 - Barra texturizada fora da embalagem com revestimento e colocação da amostra dentro do frasco.	34
Figura 16 - Cromatograma obtido no estabelecimento do método por Headspace - Temperatura de 40°C e tempo de incubação de 15 min.....	36
Figura 17 - Cromatograma obtido no estabelecimento do método por Headspace - Temperatura de 40°C e tempo de incubação de 30 min.....	37
Figura 18 - Cromatograma obtido no estabelecimento do método por Headspace - Temperatura de 60°C e tempo de incubação de 15 min.....	37
Figura 19 - Cromatograma obtido no estabelecimento do método por Headspace - Temperatura de 60°C e tempo de incubação de 30 min.....	37
Figura 20 - Cromatograma obtido no estabelecimento do método com fibra SPME - Temperatura de 60°C e tempo de incubação de 30 minutos.	38
Figura 21 - Cromatograma obtido no estabelecimento do método pelo método SPME - Temperatura de 60°C e tempo de incubação de 30 minutos: Uma exposição.	39
Figura 22 - Cromatograma obtido no estabelecimento do método pelo método SPME - Temperatura de 60°C e tempo de incubação de 30 minutos: Exposição tripla.	39

Figura 23 - Impacto da inativação térmica nos compostos voláteis identificados (I).	42
Figura 24 - Impacto da inativação térmica nos compostos voláteis identificados (II)	42
Figura 25 - Puré inativado vs. Barra: Variação das áreas médias dos terpenos.	44
Figura 26 - Puré inativado vs. Barra: Variação das áreas médias das lactonas.....	45
Figura 27 - Puré inativado vs. Barra: Variação das áreas médias dos aldeídos.....	45
Figura 28 - Puré inativado vs. Barra: Variação das áreas médias dos álcoois.....	46
Figura 29 - Puré inativado vs. Barra: Variação das áreas médias do composto não identificado (36).....	47
Figura 30 - Barra sem revestimento vs. Barra com revestimento: Variação das áreas médias dos terpenos.	49
Figura 31 - Barra sem revestimento vs. Barra com revestimento: Variação das áreas médias das lactonas.	50
Figura 32 - Barra sem revestimento vs. Barra com revestimento: Variação das áreas médias dos aldeídos.	50
Figura 33 - Barra sem revestimento vs. Barra com revestimento: Variação das áreas médias dos álcoois.	51
Figura 34 - Barra sem revestimento vs Barra com revestimento: Variação das áreas médias do composto desconhecido (36).....	52
Figura 35 - Impacto do tratamento por altas pressões hidrostáticas nos compostos voláteis da barra texturizada com revestimento (I).	53
Figura 36 - Impacto do tratamento por altas pressões hidrostáticas nos compostos voláteis da barra texturizada com revestimento (II).	54
Figura 37 - Impacto dos tratamentos térmicos nos compostos voláteis da barra texturizada com revestimento (I).....	56
Figura 38 - Impacto dos tratamentos térmicos nos compostos voláteis da barra texturizada com revestimento (II).....	56
Figura 39 - Comparação do impacto dos tratamentos HHP 500 MPa e TT 80°C - 2 min (I)..	58
Figura 40 - Comparação do impacto dos tratamentos HHP 500 MPa e TT 80°C - 2 min (II).	59
Figura 41 - Cromatogramas das amostras de gelano: gel com 1% de gelano na proporção 25/75 ba/aa (em cima) e com 1.5ml de revestimento na proporção 90/10 ba/aa (em baixo).	73
Figura 42 - Cromatograma de puré de manga fresco.	74
Figura 43 - Cromatograma de puré de manga inativado.....	75
Figura 44 - Cromatograma barra sem revestimento (em frasco).	76
Figura 45 - Cromatograma barra com revestimento (em frasco).	77
Figura 46 - Cromatograma barra convencional com revestimento.....	78

Índice tabelas

Tabela 1 - Exemplos de hidrocolóides relevantes para a indústria.	4
Tabela 2 - Comparação de propriedades dos géis formados pelos dois tipos de gelano.....	8
Tabela 3 - Composição geral da manga.....	11
Tabela 4 - Compostos presentes no aroma de manga.	15
Tabela 5 – Exemplos de processamento por HHP.	19
Tabela 6 – Exemplo de condições de tratamentos térmicos.	20
Tabela 7 - Valor médio e desvio padrão do valor de pH e teor de sólidos solúveis para os purés de manga utilizados.....	36
Tabela 8 - Resultados microbiológicos: Contagem de colónias	60
Tabela 9 - Compostos voláteis e tempos de retenção identificados.....	72
Tabela 10 - Área média e desvios padrões referentes ao Puré fresco e Puré inativado.	79
Tabela 11 - Área média e desvios padrões referentes ao puré inativado, barra, barra sem revestimento e com revestimento.....	80
Tabela 12 - Área média e desvios padrões referentes aos tratamentos térmicos.	83
Tabela 13 - Área média e desvios padrões referentes às altas pressões hidrostáticas.	84
Tabela 14 - Teste LSD Fisher para as altas pressões hidrostáticas.	84
Tabela 15 - Teste LSD Fisher para os tratamentos térmicos.	85
Tabela 16 - Teste LSD Fisher para HHP 500 MPa - 120 s vs tratamento térmico 80°C - 2 min.	85

1. Introdução e objetivos

A indústria alimentar tem acompanhado as preferências do consumidor e este pretende cada vez mais produtos frescos e convenientes, devido à crescente consciencialização relativamente à saúde, bem como à falta de tempo associada à rotina do quotidiano, cada vez mais ativa.

A fruta é comumente associada a um alimento saudável pelo seu elevado teor nutricional consistindo numa ótima fonte de antioxidantes, vitaminas, fibras e minerais. Dada a sua ampla diversidade de formas e cores, aliada ao sabor agradável, a fruta é um alimento sensorialmente apelativo, agradando a uma grande parte da população.

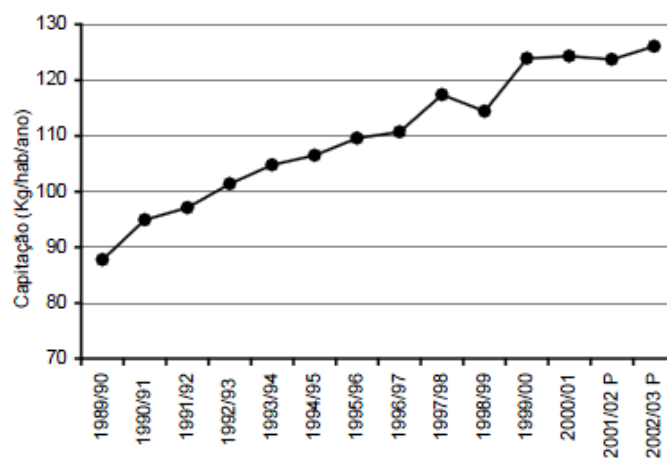


Figura 1 - Consumo de Frutos per capita em Portugal no período 1989-2003.

Fonte: Instituto Nacional de Estatística, disponível em www.ine.pt

Segundo o Instituto Nacional de Estatística, no período de 1993 – 2003 o consumo de frutos em Portugal aumentou em 20,4%, sendo que em 2002-2003 o consumo *per capita* atingiu um consumo de 126,1 kg/hab/ano (Figura 1).

Os produtos processados possuem melhores perspetivas no mercado que fruta fresca, principalmente devido ao baixo tempo de prateleira desta e devido também à sua sazonalidade (Tharanathan *et al.*, 2006).

No sentido de desenvolver um produto com as características da fruta fresca, mas mais prático e conveniente, indo de encontro às preferências dos consumidores, deu-se início ao estudo do desenvolvimento de barras de fruta, baseadas na texturização de puré de manga usando

o gelano como agente gelificante, sendo o tema de uma tese de doutoramento em curso que conta com a colaboração entre o ISA e a FCT/UNL.

A manga é um fruto exótico, extremamente aromático e sobretudo bastante nutritivo, devido ao elevado conteúdo em vitamina C, β -caroteno, fibra e minerais, pelo que foi o fruto eleito para a elaboração do produto alimentar em questão. Como agente gelificante selecionou-se o hidrocolóide gelano, devido às suas propriedades de gelificar por redução da temperatura e de lhe ser atribuída uma excelente capacidade de libertação do *flavour* (Koliandris *et al.*, 2008).

O *flavour* consiste na interação das sensações de gosto e odor, durante o momento de degustação, esta interação resulta dos respetivos compostos presentes no alimento. Os compostos de aroma são responsáveis pelo odor e são compostos voláteis (Belitz *et al.*, 2009). O *flavour* é um atributo crítico para a aceitabilidade dos frutos (Malundo *et al.*, 2001) e a perda de compostos de aroma durante o seu processamento constitui um dos problemas mais conhecidos na indústria alimentar, dado que está associada a um decréscimo da qualidade dos mesmos (Chauhan *et al.*, 2010).

Face ao exposto, de modo a dar continuidade e a acrescentar uma avaliação de outros parâmetros igualmente importantes no desenvolvimento deste produto promissor, o objetivo deste trabalho consistiu em averiguar o impacto do tipo de processamento nos compostos voláteis responsáveis pelo aroma e, consequentemente, pelo *flavour* presentes na barra texturizada de manga. A formulação do produto seguida neste trabalho foi otimizada em estudos anteriores.

A técnica utilizada para análise dos compostos de aroma foi a cromatografia gasosa, sendo os objetivos específicos deste estudo:

- Avaliação do impacto da inativação de enzimas da matéria-prima (puré de manga) por tratamento térmico, no perfil aromático da mesma;
- Avaliação da libertação dos compostos voláteis da matriz criada pela texturização do puré de manga com gelano (barra de puré de manga), ao longo de 9 dias de armazenamento;
- Avaliação da libertação dos compostos voláteis das barras de puré de manga com revestimento comestível, ao longo de 9 dias de armazenamento;
- Avaliação do impacto de dois métodos de conservação (altas pressões hidrostáticas e tratamento térmico) no perfil aromático das barras de puré de manga com revestimento comestível, assim como na redução da sua carga microbiana.

2. Enquadramento teórico

2.1. Barras de fruta

Da gama de produtos gelificados destacam-se os doces e as geleias. Os doces são produzidos a partir de polpa de fruta, enquanto a geleia resulta de sumo ou de extrato aquoso de frutos. Como gelificantes a indústria alimentar utiliza vários agentes, tais como agár, alginato, gelano, sendo o mais comum a pectina, que se encontra naturalmente presente nos produtos hortofrutícolas (Martins, 2011). No mercado nacional existe uma grande diversidade de doces e geleias, todavia não se comercializam gelificados em forma de barra. No mercado internacional existem barras de fruta de características bem diferentes daquela que é objeto do presente estudo.

Na Índia são produzidas barras por desidratação do puré de fruta, sendo as barras de manga as mais comuns nesse país. Estas são tradicionalmente preparadas com açúcar branco ou mascavado e puré de manga madura, numa proporção de 1:2 ou de 1:4. Esta mistura é desidratada ao sol por camadas, sendo por fim cortada em tamanhos uniformes, as barras são embrulhadas em papel celofane e comercializadas. Este processo tradicional foi melhorado ao se mecanizar as etapas de extração, mistura e secagem do puré, esta última é feita em secadores de ar quente. O puré é espalhado em tabuleiros de aço inoxidável e seco com ar quente a 50-60°C durante 18-22 horas.

Também na Índia foi desenvolvida uma barra de goiaba. A preparação desta barra de goiaba consiste em incorporar aditivos como malto dextrina, pectina, amido solúvel e farinha de trigo, juntamente com puré de goiaba tratado enzimaticamente. É por fim sujeito também a uma secagem até que o teor de humidade atinja os 15% (Vijayanand *et al.*, 2000).

Em qualquer um destes produtos o fruto sofre um processo de secagem/desidratação o que não acontece com a barra texturizada de manga estudada neste trabalho.

Existem ainda estudos de barras de fruta em desenvolvimento. Nomeadamente também na Índia, realizou-se um estudo sobre a formulação de uma barra de fruta confeccionada a partir de “*Wood Apple*”, maçã de madeira traduzido à letra, fruto da árvore *Limonia acidíssima*, típica do Sul e Sudeste Asiático. A fruta “*Wood Apple*” é utilizada na preparação de *chutneys*, gelatinas e geleias. Esta barra possui uma textura maleável semelhante às passas de uva e constitui uma boa fonte de fibra e açúcar natural, foi desenvolvida com o intuito de melhorar a textura das barras de fruta tradicionais existentes na Índia. O método de preparação implica a fervura dos ingredientes (polpa do fruto, açúcar, leite em pó e gordura hidrogenada), sendo

o preparado arrefecido até à temperatura ambiente. Esta barra de “*Wood Apple*” revelou uma melhor textura, estabilidade sensorial e de armazenamento quando comparada às tradicionais barras de fruta da Índia (Vidhya, 2010).

Nos Estados Unidos da América foi patenteada uma barra de fruta desidratada, esta possui uma camada de lecitina, que corresponde entre 1 a 5% do seu peso, para que não seja necessário efetuar uma reidratação do produto antes de ser consumido (Rahman & Schafer, 1972). Também nos Estados Unidos da América existe uma variante das típicas barras de fruta, este produto contém um centro de fruta encapsulado com uma camada de caramelo e nozes, esta por sua vez é revestida por uma cobertura aromatizada de chocolate (Given & Arciszewski, 1989).

A vantagem da barra de manga estudada neste trabalho em relação a estes produtos referidos reside no facto de esta apresentar características de fruta fresca, o que não acontece nos restantes produtos onde se aplicam operações de secagem ou cozedura.

2.2. Gelano

Os hidrocolóides são amplamente usados na indústria alimentar numa gama de aplicações alargada devido às suas diferentes funcionalidades, designadamente como agentes espessantes, gelificantes e estabilizantes (espumas e emulsões, por exemplo). Os hidrocolóides são obtidos de diferentes fontes, tais como fontes vegetais, de microrganismos e também de algas (Seisun, 2010). A sua incorporação em formulações de produtos alimentares é geralmente realizada em pequenas concentrações, representando 1% ou menos do peso total do produto, sendo esta percentagem suficiente para influenciar a textura e as propriedades organoléticas dos produtos elaborados (Sworn, 2000). Na Tabela 1 são apresentados alguns hidrocolóides usados na indústria alimentar.

Tabela 1 - Exemplos de hidrocolóides relevantes para a indústria.

Fonte: Sworn, 2000.

Hidrocolóide	Fonte	Função
Celulose^a	Plantas	Emulsionante, estabilizante e agente de dispersão
Amido		Espessante e gelificante
Alginato	Algas castanhas	Gelificante

Agár Carragenano	Algas vermelhas	Gelificante, estabilizante e espessante
		Espessante, gelificante, estabilizante e emulsionante
Xantano Gelano	Microbiana	Espessante e estabilizante
		Espessante, gelificante e estabilizante

^a sendo obtido um derivado de celulose, denominado metilcelulose.

De entre os hidrocolóides apresentados encontra-se o gelano. O gelano é um polissacárido extracelular (EPS), produzido pela bactéria *Sphingomonas elodea*. Para além de ser um bom agente gelificante, é também usado como, espessante, estabilizante, e na formação de filmes e revestimentos comestíveis (Chandrasekaran & Radha, 1995).

A estrutura molecular do gelano consiste numa cadeia linear baseada na repetição de unidades de β -D-glucose, α -L-ramnose e β -D-ácido glucurónico (Figura 2). Na forma nativa ou gelano alto acilo, encontram-se presentes dois grupos acilo: acetilo e glicerilo. Estes encontram-se localizados no mesmo resíduo de glucose, e em média, existe um grupo glicerilo por repetição e um grupo acetilo por cada duas unidades de repetição (Seisun, 2010). Os grupos acilo podem ser removidos por hidrólise alcalina obtendo-se uma segunda forma de gelano, designado por gelano de baixo acilo (Figura 3) (Morris et al., 2012).

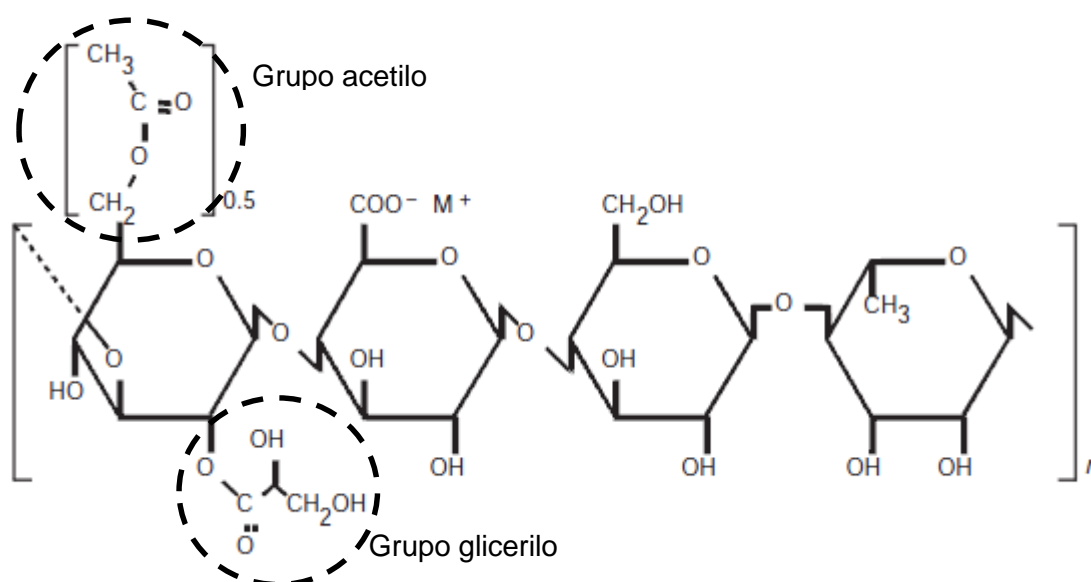


Figura 2 - Estrutura do gelano alto acilo.

Adaptado de: Valli & Clark, 2010.

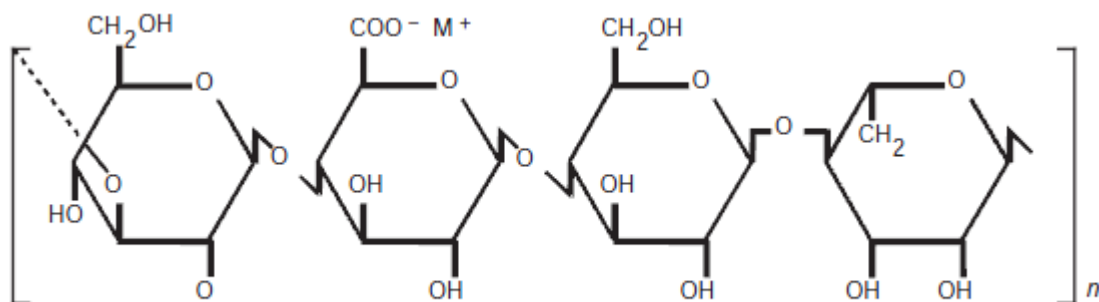


Figura 3 - Estrutura do gelano baixo acilo.

Adaptado de: Valli & Clark, 2010.

O processo de formação do gel compreende essencialmente três etapas: (i) hidratação das moléculas de gelano com aquecimento, adotando estas a conformação molecular aleatória em solução, (ii) formação de duplas hélices e (iii) agregação das duplas hélices, durante o arrefecimento, levando à criação de uma estrutura tridimensional estável (figura 4) (Morris *et al.*, 2012).

Os grupos acilo têm uma influência acentuada nas características dos géis formados pelo gelano. O gelano alto acilo produz géis macios, elásticos e não quebradiços, enquanto o gelano baixo acilo produz géis firmes, não elásticos e quebradiços (Cp Kelco, 2007; Valli & Clark, 2010).

Isto acontece pois no gelano alto acilo, os grupos acilo ajudam a estabilizar a dupla hélice (através de ligações adicionais por pontes de hidrogénio, formadas pelos grupos L-glicerilo, entre as cadeias), mas interferem com a agregação da mesma limitando-a (Morris *et al.*, 2012).

No caso do gelano baixo acilo este não possui a interferência dos grupos acilo e a presença de catiões promove a agregação das duplas hélices, para este tipo de gelano. Esta agregação ocorre pela ligação direta entre os iões e as mesmas (Morris *et al.*, 2012), formando uma rede tridimensional mais forte (Sworn, 2000). Os catiões divalentes, como o cálcio (Ca^{2+}) e o magnésio (Mg^{2+}), são mais eficientes na promoção da gelificação do gelano, que os catiões monovalentes. A agregação é induzida pela redução da repulsão entre as hélices, uma vez que os iões diminuem a carga negativa das mesmas (Morris *et al.*, 2012).

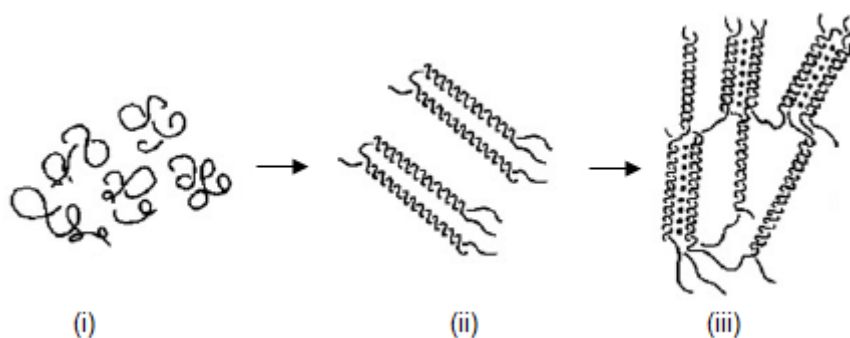


Figura 4 - Modelo de gelificação do gelano:

(i) hidratação das moléculas do gelano com aquecimento, (ii) formação das duplas hélices e início da sua agregação com arrefecimento, (III) formação de um agregado estável (gel) com arrefecimento.

Adaptado de Morris *et al.*, 2012.

Outro fator que promove a agregação e a gelificação é a redução do pH (até cerca de 3.9), que origina a conversão dos grupos carboxilo do glucuronato, de COO^- a COOH , resultando mais uma vez na diminuição da carga negativa do polímero e consequentemente, na redução da repulsão electrostática entre as hélices (Morris *et al.*, 2012).

Os sólidos solúveis, tais como os açúcares, possuem um efeito que incide na textura dos géis criados, pelo que com uma quantidade crescente de açúcares, os géis de gelano baixo acilo tornam-se menos rígidos e mais elásticos. Para o gelano alto acilo um valor acima de 60% de teor de sólidos solúveis torna os géis mais elásticos (Cp Kelco, 2007), este facto deve-se ao efeito plastificante dos açúcares (Sworn, 2000).

Relativamente às temperaturas de gelificação, o gelano baixo acilo gelifica tipicamente perto dos 60°C, mas consoante a concentração de iões utilizada pode abranger uma gama de temperaturas de gelificação que se inicia nos 10°C, chegando aos referidos 60°C. Enquanto o gelano alto acilo forma géis entre os 70-80°C (Sworn, 2000).

No geral, géis realizados com o gelano baixo acilo não são termicamente reversíveis, sendo estáveis termicamente. Os géis obtidos através do alto acilo perdem a firmeza com o aquecimento e pode ocorrer mesmo a transição gel-sol se o aquecimento for prolongado (Cp Kelco, 2007), são portanto termo reversíveis.

Podem ser feitas misturas dos dois tipos de gelano, de modo a formar uma gama de estruturas com propriedades intermédias. Como referido o gelano alto acilo gelifica a temperaturas mais altas, sendo que o gelano baixo acilo gelifica dentro da rede criada pelo gelano alto acilo,

permitindo assim uma transição suave entre formas, o que resulta numa vasta gama de texturas.

Esta característica aleada ao facto do gelano poder ser utilizado em concentrações muito baixas, bem como dos géis formados poderem apresentar uma excelente estabilidade térmica em conjunto com todas as restantes propriedades, faz deste hidrocolóide um gelificante muito apelativo para o uso na indústria alimentar (Valli & Clark, 2010). Na Tabela 2 apresenta-se um resumo das propriedades dos géis formados pelas duas formas de gelano.

Tabela 2 - Comparação de propriedades dos géis formados pelos dois tipos de gelano.

Adaptado de Sworn, 2000.

	Gelano baixo acilo	Gelano alto acilo
Iões como promotores de gelificação	Sim	Não sensível a iões
Viscosidade da solução	Baixa	Alta
Temperatura de gelificação	10-60°C	70-80°C
Géis reversíveis	Não	Sim
Limpidez	Clara	Opaco
Textura do gel	Firme e quebradiço	Macio e elástico

Em termos de libertação de aroma, é sabido que o *flavour* de produtos gelificados é menor do que o de produtos fluídos. No entanto os géis formados através do gelano têm demonstrado uma boa capacidade de libertação de *flavour*, tendo sido reportado que o gelano origina menos supressão dos compostos de aroma que a maioria dos agentes gelificantes. Uma explicação para este facto atribui-se à ação da mastigação, que liberta os compostos de aroma que se encontram aprisionados nos géis. Em estudos anteriores, concluiu-se que a libertação de *flavour* é determinada pela extensão da deformação e fratura do gel, pois cria novas superfícies por onde ocorre essa libertação. Esta ocorre através da expulsão do fluído devido à compressão a que o gel é sujeito, uma vez que a saída de água proporciona um mecanismo de transporte para os compostos de aroma (Morris *et al.*, 2012).

Estas afirmações estão em consonância com um estudo publicado por Koliandris *et al.* (2008), onde se estudaram as estruturas gel de hidrocolóides e a libertação de *flavour*. Nesse estudo, através da análise sensorial realizada por um painel de provadores, determinou-se que a libertação do *flavour* é maior quando os géis são quebradiços (portanto quando são gelificados com uma maior quantidade de gelano baixo acilo), uma vez que este tipo de géis proporciona a exposição de uma maior área de contacto, após a sua fratura.

Dadas as vastas propriedades funcionais do gelano, este pode ser utilizado nos mais diversos produtos da indústria alimentar. Entre os quais se pode destacar a aplicação em doces e compotas, onde este hidrocolóide substitui a pectina; em frutos e vegetais processados, conferindo estrutura após serem sujeitos a um aquecimento (tratamento térmico) e arrefecimento (Bajaj *et al.*, 2007); em sobremesas instantâneas, coberturas e recheios de bolos, onde atua também como agente estruturante e em gelados, iogurtes e batidos atuando como estabilizante (Morris *et al.*, 2012).

O gelano também tem vindo a ser utilizado na formulação de revestimentos, o uso de revestimentos comestíveis consiste na aplicação de um material comestível na superfície de um alimento. Sendo que esta aplicação possui vários benefícios: melhora o aspeto exterior, retarda a perda de cor, reduz a desidratação (Olivas & Barbosa-Cánovas, 2005) e contribui para melhorar as propriedades de textura e para a preservação dos componentes voláteis do produto. Nomeadamente o gelano tem sido utilizado em formulações de revestimentos para produtos minimamente processados como a maçã e a papaia, de modo a diminuir a oxidação e desidratação destes frutos (Tapia *et al.*, 2008).

O uso de revestimentos em produtos frescos confere assim, uma proteção adicional, além de que pode prolongar o tempo de prateleira deste tipo de produtos (León & Rojas, 2007).

2.3. Manga

2.3.1. Caracterização botânica

A espécie *Mangifera indica* pertence à família Anacardiaceae, principalmente constituída por espécies tropicais.

A manga é um fruto carnoso com uma semente aderida ao endocarpo. A região do exocarpo desenvolve-se numa pele protetiva, suave, verde e cerosa, uma vez madura altera para verde pálido ou amarelo marcado com vermelho, dependendo das cultivares. O mesocarpo providencia uma polpa firme edível, que pode ou não ser fibrosa, com um *flavour* que varia de

terebintina (resinoso) a doce (Tharanathan *et al.*, 2006). Em mangas de boa qualidade o mesocarpo apresenta cor amarela e/ou alaranjada sendo bastante doce e ligeiramente ácido. O endocarpo é oval, achatado nas pontas com mais ou menos fibras que penetram no mesocarpo (Parfony, 2001).



Figura 5 - Manga Palmer do Brasil.

Fonte: Freshplaza, disponível em: <http://www.freshplaza.es/>

A manga é um dos mais importantes frutos a nível mundial, é cultivada em mais de 100 países (Liu *et al.*, 2013). O Brasil encontra-se entre os maiores produtores de manga (Ribeiro *et al.*, 2007), uma vez que as condições climáticas permitem a produção deste fruto ao longo de todo o ano pelo uso de técnicas de indução de floração. A mangueira desenvolve-se bem em regiões tropicais onde existe uma clara distinção entre estação seca e húmida (Parfony, 2001).

As cultivares *Haden*, *Tommy Atkins* e *Palmer* (Figura 5) são as mais apreciadas em mercados internos e externos para consumo fresco uma vez que apresentam atributos de qualidade exigidos pelos consumidores (Ribeiro *et al.*, 2008).

A maioria da manga é consumida crua como sobremesa, sendo a restante processada nos mais diversos produtos, entre os quais néctares, xaropes (Liu *et al.*, 2013), concentrado de manga, cereais, barras de fruta e manga em pó/desidratada (Schieber *et al.*, 2000), constituindo um fruto com imenso potencial e valor económico.

2.3.2. Composição química

A composição química da manga varia com as cultivares (Parfony, 2001), sendo que a cultivar selecionada para a realização da barra texturizada neste trabalho foi a *Palmer* do Brasil.

Na tabela 3 apresenta-se a composição química da manga. A maioria dos constituintes da polpa de manga são água, hidratos de carbono, ácidos orgânicos, lípidos, minerais,

pigmentos, taninos, vitaminas e compostos de aroma. Os açúcares dominantes são glucose, frutose e sacarose (Tharanathan *et al.*, 2006) que, em conjunto com os ácidos orgânicos conferem características de gosto, enquanto os voláteis caracterizam o seu aroma e *flavour* (Liu *et al.*, 2013).

Tabela 3 - Composição geral da manga.

Fonte: Tabela da composição de alimentos, Instituto Ricardo Jorge. Disponível em <http://www.insa.pt/>

Componentes	Por 100 g
Energia kcal	52
kJ	217
Macroconstituintes (g)	
Água	83,5
Proteína	0,5
Gordura Total	0,3
Total de Hidratos de Carbono disponíveis	11,7
Total de Hidratos de Carbono expresso em monossacáridos,	12,1
Mono+dissacáridos	11,5
Ácidos orgânicos	0,6
Amido	0,2
Ácidos gordos (g)	
Ácidos gordos saturados	0,1
Ácidos gordos monoinsaturados	0,1
Ácidos gordos polinsaturados	0,1
Vitaminas	

Vitamina A total (equivalentes de retinol), ug	300
Caroteno, mg	1800
α -tocoferol, mg	1,0
Tiamina, mg	0,04
Riboflavina, mg	0,05
Equivalentes de niacina, mg	0,60
Niacina, mg	0,5
Triptofano/60, mg	0,1
Vitamina B6, mg	0,13
Vitamina C, mg	23
Folatos, ug	36
Minerais	
Cinza, g	0,50
Sódio (Na), mg	14
Potássio (K), mg	115
Cálcio (Ca), mg	9,0
Fósforo (P), mg	10
Magnésio (Mg), mg	13
Ferro (Fe), mg	0,2
Zinco (Zn), mg	0,1

A cor apelativa do fruto deve-se principalmente à abundância de β -caroteno, constituinte que ocupa a maior porção do total de carotenoides (48-84%), sendo também uma boa fonte de vitamina A e C, antioxidantes que ajudam na prevenção de danos causados por radicais livres.

Assim sendo, é-lhes associada uma diminuição do risco de certas doenças (Liu *et al.*, 2013). As cultivares de manga diferem no seu conteúdo antioxidante devido ao genótipo, a condições anteriores à colheita, incluindo as condições climáticas, práticas de cultura e estado de maturação (Ribeiro *et al.*, 2007).

A presença de compostos fenólicos na dieta do ser humano está associada a efeitos protetores contra algumas doenças crónicas degenerativas relacionadas com o *stress* oxidativo. A manga pode contribuir para aumentar o teor de compostos polifenólicos ingeridos diariamente. A ingestão diária de 150g de polpa de manga *Palmer*, que representa aproximadamente $\frac{1}{4}$ do fruto, faculta cerca de 11,71% do valor recomendado de ingestão diária de vitamina C e 6,1% de vitamina A (Ribeiro *et al.*, 2007), sendo portanto, um fruto bastante nutritivo.

2.3.3. Compostos de aroma

O aroma é a chave determinante para a qualidade dos frutos e é definido pelo perfil volátil dos alimentos (Keenan *et al.*, 2012). Este consiste numa mistura complexa de compostos voláteis, a composição destes varia com a espécie e com a cultivar do fruto. Cada fruto possui um aroma distinto que resulta da combinação dos voláteis, assim como, da sua concentração e do limiar mínimo de deteção/perceção de cada composto pelo ser humano (Hadi *et al.*, 2013).

Mais de 270 compostos voláteis foram identificados na manga no último século, sendo que os monoterpenos são os compostos que se encontram em maior abundância. O monoterpeno 3-careno é descrito como o composto mais abundante nos compostos voláteis avaliados pelo método *headspace**, sendo descrito como um aroma típico de manga e de folhas da árvore. Este foi detetado em altas concentrações nas mangas das cultivares *Tommy Atkins*, *Keitt* e *Venezuelan*. Outros monoterpenos são considerados importantes para aromas cítricos, frutados e “verde/herbáceo”, o que indica uma provável contribuição destes compostos para o aroma geral da manga (Malundo *et al.*, 1997).

Além dos terpenos, o *flavour* da manga é devido também a outros compostos voláteis, tal como álcoois e aldeídos (Liu *et al.*, 2013), sendo que os ésteres e as lactonas são vistos como tendo um papel importante no *flavour* único de certas cultivares (Malundo *et al.*, 1997). Foi reportado que os ésteres são o segundo grupo de compostos mais abundante quantitativamente na polpa de fruta, estes são associados ao aroma frutado.

*headspace - método de análise de compostos de aroma descrito no tópico 2.5.1.

As lactonas e furanonas conferem um aroma a pêssego e notas de ananás a algumas cultivares de manga, contudo podem não ser detetadas noutras cultivares. Pelo que a influência destas no aroma geral de manga pode ser reduzida, contribuindo essencialmente para o aroma específico de certas cultivares (Malundo *et al.*, 1997).

Em estudos anteriores foi reportado que o etil-2-metilpropanoato, o butanoato de etilo, benzoato de metilo, 2,5-dimetil-4-metoxil-3(2H)-furanona, E- β -ionona, (E,Z)-2,6 nonadienal, E-2-nonenal e o decanal, são dos compostos que mais provavelmente contribuem para o aroma da manga. (Liu *et al.*, 2013).

Assim consegue-se destacar os monoterpenos, lactonas, aldeídos e ésteres como os principais grupos de compostos que provavelmente conferem o aroma característico aos frutos de manga. No entanto, as cultivares de manga possuem normalmente uma vasta gama de compostos de aroma, por isso é expectável uma variação considerável nos compostos voláteis entre as cultivares. Assim como pode ser comprovado pela tabela 4, estes compostos variam amplamente entre as cultivares, não havendo por essa razão uma composição típica de voláteis para este fruto (Pino *et al.*, 2005).

O parâmetro OAV (*odour activity values*), mostra-se muito relevante e útil quando se trata de um estudo sobre compostos voláteis e o aroma a que lhes está associado. Este conceito consiste na relação de concentração do composto volátil em questão e o limiar mínimo de deteção desse composto pelo ser humano. Compostos com um OAV superior a 1, são assumidos como compostos que contribuem para as características de aroma dos alimentos. Caso o OAV seja inferior a uma unidade, quer dizer que a concentração do composto presente no fruto é menor que o limite de deteção deste, pelo que é questionável que contribua significativamente para o aroma do fruto (Pino & Mesa, 2006).

De seguida encontra-se a tabela 4, que representa a compilação de compostos voláteis que podem ter uma influência significativa no aroma geral da manga, com base no conceito OAV. Apresenta-se também informação relativa ao número de cultivares do fruto em que cada composto se encontra presente e as respetivas notas aromáticas, isto é, a contribuição de cada um para o aroma global da manga.

Tabela 4 - Compostos presentes no aroma de manga.

	Composto	Nº de cultivares (cv) em que está presente	Contributo/notas de aroma	OAV ⁽¹⁾
Monoterpenos	δ-3-careno	17 cv de 20 ⁽¹⁾ 20 cv de 20 ⁽²⁾ 12 cv de 15 ⁽³⁾ 21 cv de 27 ⁽⁷⁾	Folha de árvore de manga e característico a manga ⁽⁴⁾ Doce ^{(1) (2)} e maduro ⁽¹⁾ Limão e resina ⁽⁵⁾	0,7 – 1,4
	α-pineno	20 cv de 20 ⁽¹⁾ 20 cv de 20 ⁽²⁾ 9 cv de 15 ⁽³⁾ 27 cv de 27 ⁽⁷⁾	Verniz e terebentina ^{(4) (5)} Pinha ⁽⁵⁾⁽⁶⁾	0,7 – 2,9
	α-terpinoleno	18 cv de 20 ⁽¹⁾ 20 cv de 20 ⁽²⁾ 13 cv de 15 ⁽³⁾ 1 cv de 27 ⁽⁷⁾	Limão ⁽⁵⁾	0,4 - 2,4
	Mirceno	20 cv de 20 ⁽¹⁾ 20 cv de 20 ⁽²⁾ 13 cv de 15 ⁽³⁾ 27 cv de 27 ⁽⁷⁾	Manga verde ^{(1) (2) (4)} Balsâmico, especiaria e mofo ⁽⁵⁾	0,8 - 1,9
	Limoneno	20 cv de 20 ⁽¹⁾ 20 cv de 20 ⁽²⁾ 13 cv de 15 ⁽³⁾ 25 cv de 27 ⁽⁷⁾	Limão, laranja e cítrico ⁽⁵⁾⁽⁶⁾	0,6 – 1,2
	α-copaeno	14 cv de 20 ⁽²⁾ 4 cv de 15 ⁽³⁾ 10 cv de 27 ⁽⁷⁾	Madeira e especiarias ⁽⁵⁾	
	Mentona*	12 cv de 20 ⁽²⁾	Fresco e verde ⁽⁵⁾	
Lactonas	γ-decalactona	8 cv de 20 ⁽¹⁾ 9 cv de 20 ⁽²⁾ 1 cv de 13 ⁽⁷⁾	Herbáceo, coco e doce ^{(1) (2)} ⁽⁸⁾ Pêssego ^{(4) (5) (6)} e ananás ⁽⁴⁾	0,6 – 1,1
	γ-octalactona	11 cv de 20 ⁽¹⁾ 12 cv de 20 ⁽²⁾ 1 cv de 27 ⁽⁷⁾	Herbáceo ^{(1) (2)} , coco ^{(1) (2) (5)} e doce ^{(1) (2) (8)} Pêssego e ananás ⁽⁴⁾	0,4 – 1,1

	Y-undelactona*	ND ⁽¹⁾ 6 cv de 20 ⁽²⁾	Pêssego ⁽⁵⁾	
	2,5-dimetil-4-metoxilo-3(2H)-furanona	8 de 20 cv ⁽¹⁾ 8 de 20 cv ⁽²⁾	Vinho xerez ^{(1) (2)} Caramelo, doce e mofo ⁽⁵⁾	2,8 – 4,8
	(E)-β-ionona	20 cv de 20 ⁽¹⁾ 1 cv de 20 ⁽²⁾	Planta violeta ^{(1) (2) (5)} Algas, floral e framboesa ⁽⁵⁾ Lírio ⁽⁶⁾	3,4 – 4,6
Ésteres	Butanoato de etilo	17 cv de 20 ⁽¹⁾ 17 cv de 20 ⁽²⁾ 3 cv de 15 ⁽³⁾	Frutado ^{(1) (2)}	1,8 – 3,7
	Etilo-2-metilpropanoato	8 cv de 20 ⁽¹⁾	Frutado ⁽¹⁾	2,3 – 2,9
	Benzoato de metilo	19 cv de 20 ⁽²⁾	Frutado ⁽¹⁾ e floral intenso ⁽²⁾ Alface, erva-doce e ameixa ⁽⁵⁾⁽⁶⁾	1,9 – 2,8
Aldeídos	(E,Z)-2,6-nonadienal	17 cv de 20 ⁽¹⁾ 18 cv de 20 ⁽²⁾	Melão ^{(1) (2)} e pepino ⁽²⁾⁽⁵⁾ Verde, cera ⁽⁵⁾ e gerânio ⁽⁶⁾	3 – 4,5
	2,4-nonadienal*		Melância, gerânio e verde ⁽⁵⁾⁽⁶⁾	
	(E)-2-nonenal	15 cv de 20 ⁽¹⁾ 15 cv de 20 ⁽²⁾	Melão ^{(1) (2)} e pepino ⁽²⁾⁽⁵⁾ Verde e sebo ⁽⁵⁾	2,9 – 3,9
	Decanal	14 cv de 20 ⁽¹⁾ 14 cv de 20 ⁽²⁾	Sabão, gordura/sebo, casca de laranja ⁽⁵⁾⁽⁶⁾	2 – 2,5
	Hexanal	4 cv de 20 ⁽¹⁾ 5 cv de 20 ⁽²⁾	Relva, fresco e sebo/gordura ⁽²⁾⁽⁵⁾	0,6 – 1,7
Álcoois	α-terpineol	2 cv de 20 ⁽¹⁾ 16 cv de 20 ⁽²⁾ 3 cv de 27 ⁽⁷⁾	Óleo, anis e menta ⁽⁵⁾	0,1
	Nerol*	2 cv de 20 ⁽²⁾ *neral	Doce ⁽⁵⁾ , floral ⁽⁸⁾ e cítrico ⁽⁸⁾	
	Geraniol*	ND ^{(1) (2)} 7 cv de 20 ⁽¹⁾ *geranial	Rosa ⁽⁵⁾ , gerânio ^{(5) (6)} e cítrico ⁽⁸⁾	

		15 cv de 20 ⁽²⁾ *geranial		
	Linanool	18 cv de 20 ⁽¹⁾ 18 cv de 20 ⁽²⁾ 4 cv de 15 ⁽³⁾	Floral ⁽⁸⁾ , lavanda ⁽⁵⁾ , coentros ⁽⁶⁾ , floral e cítrico ⁽¹⁾ ⁽⁸⁾	0,3 – 1,1

⁽¹⁾ Pino & Mesa, 2006; ⁽²⁾ Pino *et al.*, 2005; ⁽³⁾ Andrade *et al.*, 2000; ⁽⁴⁾ Malundo *et al.*, 1997; ⁽⁵⁾ Flavournet, disponível em: <http://www.flavornet.org>; ⁽⁶⁾ Fantastic Flavour, disponível em: <http://fantastic-flavour.com/>; ⁽⁷⁾ Pandit *et al.*, 2009 ⁽⁸⁾ Chauhan *et al.*, 2010; ND – não detetado
* Compostos pouco referidos na bibliografia contudo foram identificados nas amostras analisadas

Após observação da tabela pode-se constatar que os monoterpenos são os compostos mais presentes nas cultivares de manga e como já referido, as lactonas, os ésteres e os álcoois são muito variáveis dependendo das cultivares. As lactonas conseguem ser detetadas em concentrações muito pequenas, pelo que possuem um impacto considerável no aroma global da manga em que se encontram presentes (Pandit, 2009). Os ácidos não foram inseridos na tabela pois possuem um limiar mínimo de deteção muito alto, sendo que possivelmente pouco impacto têm no aroma da manga (Pino *et al.*, 2005).

Na tabela apresentada a variabilidade entre as cultivares é notória relativamente à presença de certos compostos, mas a concentração dos mesmos também difere entre cultivares (Pandit, 2009). Devido à quantidade e diversidade de compostos voláteis presentes na manga não existem compostos típicos e/ou formulações de *flavour* (Pino & Mesa, 2006), tornando-se difícil selecionar compostos voláteis que garantidamente tenham um papel importante na componente do aroma deste fruto. Os estudos reportam que esta variabilidade se deve às diferentes cultivares em si, ao grau de maturação do fruto, à parte do fruto que é sujeita a análise e ao processamento a que este é sujeito (Pino *et al.*, 2005).

A escassez de estudos e bibliografia referente aos compostos voláteis, à cultivar manga *Palmer* do Brasil, assim como a complexidade e variabilidade dos mesmos referentes às diferentes cultivares de manga, dificultaram a seleção de compostos que fossem responsáveis pelo aroma desta cultivar, realizando-se a tabela 4 de modo a compilar informações úteis para que de algum modo auxiliassem esta seleção.

2.4. Processos de conservação

A fruta é vulnerável a desidratação, alteração e escurecimento de cor. Estes atributos são cruciais para a aceitação do produto pelo consumidor (Chien *et al.*, 2007), assim como o tempo de prateleira e a qualidade. Estes aspetos encontram-se relacionados com a qualidade microbiológica e outros fenómenos, como reações enzimáticas. Para resolver estes desafios a indústria alimentar tem vindo a interessar-se pela procura e aplicação de técnicas de preservação dos alimentos (Landl *et al.*, 2010) tais como: secagem, tratamentos térmicos (pasteurização e esterilização), fumagem, refrigeração, congelação, adição de solutos e/ou aditivos, e mais recentemente, no processo de altas pressões hidrostáticas (HHP - high hydrostatic pressure).

2.4.1. Altas Pressões Hidrostáticas

O processo de altas pressões hidrostáticas constitui uma tecnologia inovadora que minimiza a perda de qualidade sensorial e nutricional em comparação com a pasteurização, indo de encontro à exigência dos consumidores de produtos frescos (Laboissière *et al.*, 2007).

Esta tecnologia baseia-se em dois princípios físicos, o primeiro consiste na teoria de *Le Chatelier*, que refere que quando se eleva a pressão do meio uma diminuição de volume é favorecida e reações que implicam aumento de volume são inibidas. O segundo princípio consiste na teoria de Pascal, onde a pressão é transmitida instantânea e uniformemente, independentemente do tamanho e forma do produto em questão (Pflanzer *et al.*, 2008).

O processo HHP consiste assim na transmissão de pressões elevadas, através de um meio aquoso, de modo instantâneo e uniforme ao produto e é independente do tamanho, forma ou composição do alimento (Varela-Santos *et al.*, 2012), sendo que a temperatura durante o tratamento pode ser controlada (Pflanzer *et al.*, 2008). As pressões aplicadas variam entre 100 e 1000 MPa, este processo inativa microrganismos patogénicos e de deterioração, sem afetar a qualidade do alimento, quando comparada com tratamentos térmicos (TT). Os fungos e as leveduras mostram-se sensíveis a pressões de 200 a 300 MPa e as espécies bacterianas na forma vegetativa, são inativadas a pressões entre 400 e 600 MPa (Pflanzer *et al.*, 2008).

Um estudo sobre o tratamento de altas pressões hidrostáticas mostrou que a aplicação de 350 MPa por apenas 30 segundos em sumo de romã reduziu a contagem de mesófilos aeróbios em 98,4% e de fungos e leveduras em 99,2% (Varela-Santos *et al.*, 2012).

A inativação bacteriana deve-se à desnaturação de enzimas essenciais, a modificações na parede e membrana celular, alterando a permeabilidade celular e consequentemente a troca

iônica das células dos microrganismos (Pflanzer *et al.*, 2008). Estes efeitos ocorrem devido à pressurização e à rápida despressurização, acreditando-se que esta rápida descompressão origina cavitações na célula, resultando nas alterações referidas e/ou ainda na rutura da mesma (Hiremath & Ramaswamy, 2011).

As pressões mais comumente aplicadas encontram-se na gama 300-500 MPa e retêm pequenas moléculas responsáveis pelo aroma, cor e a maioria das vitaminas, resultando num produto pressurizado que pode ser armazenado durante um período de tempo considerável entre 4-6°C (Laboissière *et al.*, 2007).

Na tabela 5 apresentam-se algumas das condições que são aplicadas a produtos de fruta neste tipo de processamento.

Tabela 5 – Exemplos de processamento por HHP.

Produto	Condições do processo	Fonte bibliográfica
Sumo de manga	500-550 MPa/1min (20-25°C)	Hiremath & Ramaswamy, 2011
Polpa de manga	600 MPa/3min (23°C)	Jacobo-Velazquez <i>et al.</i> , 2010
Puré de manga	483-552 MPa/1,2,5,10 e 15min	Guerrero-Beltrán <i>et al.</i> , 2006
Puré de maçã	400 MPa/5min (20°C)	Landl <i>et al.</i> , 2010
Frutos tropicais	400 MPa/3min (25°C)	Lopes <i>et al.</i> , 2010
Batidos fruta	450 MPa/5min (20°C)	Keenan <i>et al.</i> , 2012

2.4.2. Tratamento Térmico

O processamento de alimentos através de tratamentos térmicos é sem dúvida o método mais comum e acessível para prolongar o tempo de prateleira dos produtos alimentares, através da redução da atividade microbiana e enzimática. Contudo é um tipo de processamento que pode reduzir a concentração volátil associada à frescura dos produtos, assim como pode desencadear reações de formação de *off flavours* (compostos que não se encontram presentes originalmente no produto). Estudos mostram que comparando tratamentos térmicos

com altas pressões hidrostáticas, os primeiros têm uma maior influência na redução do conteúdo volátil (Keenan *et al.*, 2012).

Alguns exemplos bibliográficos de binômios tempo/temperatura aplicados a produtos de frutos são apresentados na tabela 6.

Tabela 6 – Exemplo de condições de tratamentos térmicos.

Produto	Condições do processo	Fonte bibliográfica
Polpa de manga	75°C/8,7min e 80°C/4,6min	Faraoni <i>et al.</i> , 2008
Batidos de fruta	70°C/10min	Keenan <i>et al.</i> , 2012
Puré de maçã	75°C/10min	Landl <i>et al.</i> , 2010

2.5. Método de análise de compostos de aroma

Cromatografia é um método analítico onde as substâncias a ser separadas são sujeitas a um equilíbrio de fracionamento entre duas fases. Na maioria dos casos essas fases dividem-se em fase estacionária e em fase móvel. Quando um gás é utilizado como fase móvel, denomina-se cromatografia gasosa (Jennings *et al.*, 1997).

Na cromatografia gasosa a amostra é inserida num injetor, sendo de imediato vaporizada e transportada pela fase móvel, ao longo de uma coluna, que constitui a fase estacionária. A separação dos componentes da amostra, solutos ou analitos, é determinada pelas características e consequentemente pela afinidade de cada um deles para com a coluna, originando interações analito-coluna diferentes (Mcnair & Miller, 2009). Os vários analitos da mistura são assim separados conforme progridem ao longo da coluna, chegando ao fim desta em momentos diferentes. O tempo que dado componente permanece na coluna é registado como tempo de retenção, característico para cada analito (Li *et al.*, 2009). No fim da coluna encontra-se um detetor e a sua função é medir as quantidades dos componentes da mistura. O sinal saído do detetor alimenta um dispositivo que produz um gráfico denominado cromatograma. Neste é representado o sinal de cada composto através de um pico no seu tempo de retenção respetivo. O detetor mais utilizado é o de ionização em chama (FID – flame ionization detector), sendo que o funcionamento deste baseia-se na combustão do ar efluente

da coluna, ionizando as moléculas dos compostos. Os iões produzidos são detetados por elétrodos e a corrente iónica é medida e convertida num sinal que é registado no cromatograma (Mendham *et al.*, 2002).

2.5.1. Headspace

Headspace é uma técnica que consiste na introdução da amostra/alimento num recipiente fechado, denominado *vial* (no presente trabalho adotou-se como convenção, frasco). Este é aquecido até uma temperatura determinada durante um certo período de tempo, de modo a que se estabeleça um equilíbrio entre os voláteis presentes na matriz do alimento e aqueles que se encontram na fase de vapor (figura 6) (Belitz *et al.*, 2009).

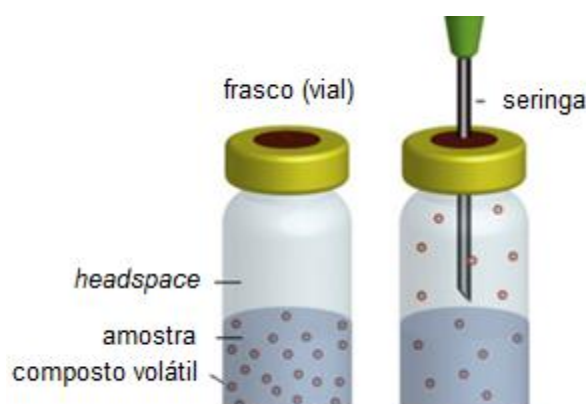


Figura 6 - Frascos antes e durante o equilíbrio entre a amostra e headspace.

Adaptado de Ciobanu *et al.*, 2012.

Uma quantidade definida do vapor em equilíbrio é retirada do frasco com a amostra, através de uma seringa e é introduzida na coluna do cromatógrafo gasoso para análise. As injeções por método *headspace* são simples e evitam que o operador submeta a(s) amostra(s) a procedimentos que alterem qualitativa e quantitativamente a sua composição (Jennings *et al.*, 1997). A análise através desta técnica está sujeita a interação entre a matriz do produto alimentar em questão e o *headspace*, representando de um modo mais próximo a experiência de ingestão, na qual os compostos voláteis são libertados do tecido da fruta para a boca, reproduzindo mais fielmente o perfil de aroma da manga (Malundo *et al.*, 1997).

2.5.2. Microextração em fase sólida

Uma desvantagem da técnica de *headspace* por cromatografia gasosa é que compostos presentes em pequenas concentrações podem não ser detetados (Malundo *et al.*, 1997). Para

contornar esta desvantagem o método por microextração em fase sólida (SPME – solid phase microextraction) tem sido usado em conjunto com a cromatografia gasosa (Shang *et al.*, 2002). Este método de extração orgânica é baseado na adsorção de analitos para um material polimérico que reveste uma fibra de sílica fundida (Stashenko & Martínez, 2007) e consiste em dois processos: na partição dos analitos entre o revestimento da fibra e o *headspace* da amostra (figura 7) e, na dessorção térmica dos analitos para o cromatógrafo gasoso (Ibáñez *et al.*, 1998). Esta técnica é utilizada para análise de compostos voláteis em diferentes matrizes, podendo ser utilizada para amostras de volumes reduzidos, mantendo e melhorando a sensibilidade da análise (Stashenko & Martínez, 2007).

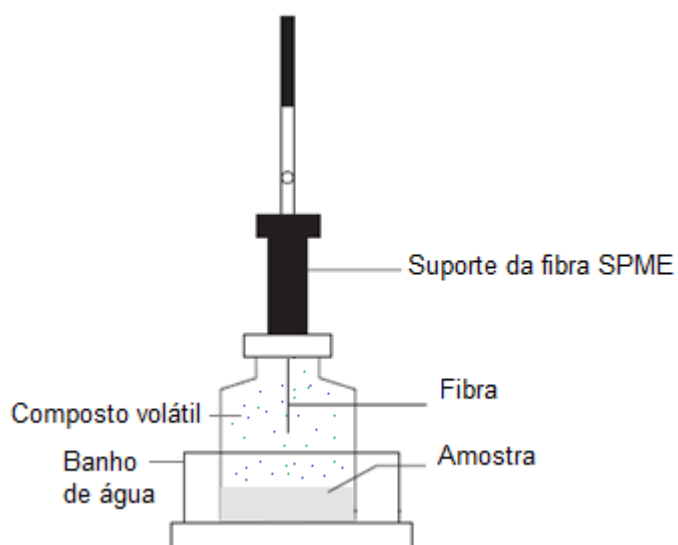


Figura 7 - Equilíbrio dos compostos voláteis entre as três fases: amostra, headspace e fibra SPME.

Adaptado de Chauhan *et al.*, 2010.

3. Desenvolvimento Experimental

O presente trabalho teve como objetivo o estudo do impacto de diferentes tipos de processamento nos compostos voláteis na barra texturizada de manga, que se encontra em desenvolvimento.

O trabalho experimental consistiu em 4 etapas:

- Avaliação do impacto do tratamento térmico para inativação de enzimas (85°C/20s) da matéria-prima (puré de manga), no perfil aromático da mesma;
- Avaliação da libertação dos compostos voláteis da matriz criada pela texturização do puré de manga com gelano (barra de puré de manga), ao longo de 9 dias de armazenamento;
- Avaliação da libertação dos compostos voláteis das barras de puré de manga revestidas com revestimento comestível, ao longo de 9 dias de armazenamento;
- Avaliação do impacto de dois métodos de conservação no perfil aromático das barras de puré de manga com revestimento comestível, assim como na redução da sua carga microbiana (contagem de mesófilos e fungos e leveduras).

A fim de se perceber quais as melhores condições para cada tratamento e qual deles o mais apropriado, avaliaram-se as seguintes condições para cada tratamento:

Tratamento de altas pressões hidroestáticas: 500 MPa – 2 minutos e 500 MPa – 4 min, a 6°C. E para o tratamento térmico, os binómios tempo/temperatura: 2 min – 80°C, 5 min – 80°C, 2 min – 90°C e 5 min – 90°C.

3.1. Materiais

As mangas da cultivar *Palmer* do Brasil para a realização das amostras foram adquiridas numa pequena loja comercial, sendo que os frutos se apresentavam maduros. Os dois tipos de gelano utilizados (gelano baixo acilo e alto acilo) correspondem à marca Kelcogel e o gluconolactato de cálcio utilizado foi da marca Texturas - Gluco.

Os fornecedores dos padrões utilizados, para a identificação dos compostos voláteis, encontram-se especificados para cada um deles:

Sigma-Aldrich: Nerol, decanal, benzoato de metilo, α -terpineol, 3-careno, 2,4-nonadienal, geraniol, D-limoneno, β -mirceno, γ -undelactona, γ -decalactona, p-cimeno, linalool.

Fluka: α -pineno e terpinoleno.

Acrôs organics: Y-octalactona.

Chemika: Mentona.

3.2. Métodos de preparação das amostras

3.2.1. Puré de manga fresco e tratado termicamente para inativação de enzimas

A preparação do puré de manga fresco consistiu em remover a pele de 2 mangas e retirar a polpa das mesmas. A polpa foi cortada em pedaços de pequenas dimensões de modo a facilitar a trituração. Esta foi realizada numa trituradora/processador de alimentos, Vorwerk Thermomix TM 31, onde durante 4 minutos a 2000 rpm (rotações por minuto), a polpa foi reduzida a puré e este foi homogeneizado. Com auxílio de seringas de 5ml, colocou-se 10g de puré em dois frascos de 40ml cada (*via/s* usados na análise por SPME), constituindo assim as amostras de puré fresco.

Para as amostras de puré tratado termicamente para inativação de enzimas (adotou-se a designação de puré inativado para estas amostras), o puré obtido como descrito anteriormente, foi imediatamente sujeito ao binómio tempo-temperatura (20 segundos/85°C) no processador já referido, sob agitação a 500 rpm. Este tratamento teve como objetivo inativar enzimas responsáveis pelo escurecimento e degradação do fruto. De seguida, o puré inativado foi introduzido em dois frascos, tal como ocorreu com o puré fresco. Os frascos permaneceram abertos durante 15 minutos, de modo a diminuir a temperatura do puré inativado, minimizando-se condensações de vapor de água (esta condição foi também realizada para o puré fresco, apesar deste se encontrar à temperatura ambiente, as condições de todas as amostras devem ser as mesmas para o estudo). Uma vez ultrapassado este tempo os frascos foram fechados e introduzidos, numa câmara frigorífica cuja temperatura é de 5°C. Esta temperatura reproduz as condições a que a barra texturizada será armazenada em casa dos consumidores. Na figura 8 encontram-se as amostras de puré fresco e puré inativado, correspondentes ao estudo do impacto do tratamento térmico aplicado para inativação de enzimas, nos compostos de aroma do puré de manga.



Figura 8 - Amostras: Puré fresco (à esquerda) vs. Puré inativado (à direita).

3.2.2. Puré de manga inativado texturizado (barra)

Foram usados dois procedimentos para a produção de puré texturizado, dependendo do tipo de estudo. No caso em que se pretendeu estudar o impacto da matriz gel criada pelo gelano, na libertação dos compostos de aroma do puré de manga inativado ao longo de 9 dias de armazenamento, o puré de manga texturizado foi preparado diretamente nos frascos de vidro (*vials*) a usar no processo de análise por SPME. Este procedimento permitiu manter constante a área de contacto entre a matriz texturizada e o *headspace* em todas as amostras.

Para o estudo do efeito dos processos de conservação no perfil aromático, foram preparadas barras em moldes retangulares.

Amostras de puré texturizado sem revestimento comestível

A produção das amostras de puré de manga texturizado foi realizada diretamente nos frascos a usar na análise dos compostos de aroma por cromatografia e seguiu as seguintes etapas:

- (i) Introdução do puré inativado, obtido como descrito em 3.2.1., num copo de vidro inserido num banho com água a temperatura controlada entre 85-90°C, com a finalidade do puré ser aquecido de modo uniforme enquanto sujeito a agitação (cerca de 500 rpm) por meio de uma misturadora, Eurostar digital - IKA labortechnik.
- (ii) Adição do gelano em pó correspondente a 1% da totalidade do puré inativado a gelificar, na proporção 25/75 baixo acilo/alto acilo (ba/aa) sob agitação (entre 850-1100 rpm), mantendo a temperatura.
- (iii) Transferência da mistura com ajuda de seringas de 5 ml, ainda à temperatura entre 85-90°C, para frascos de vidro pré-aquecidos à mesma temperatura. Foram transferidos 10g de mistura para cada frasco.
- (iv) Formação do puré texturizado nos frascos por arrefecimento da mistura à temperatura ambiente. Os frascos permaneceram abertos durante 15 minutos para minimizar a condensação de vapor de água no seu interior, sendo depois fechados e introduzidos até análise na câmara frigorífica a 5°C.

Na figura 9 encontram-se as amostras de puré inativado e puré inativado texturizado, correspondentes ao estudo do impacto da matriz gel criada pelo gelano, na libertação dos compostos de aroma ao longo do armazenamento. Onde a amostra de puré inativado texturizado pretende reproduzir a barra texturizada de manga.

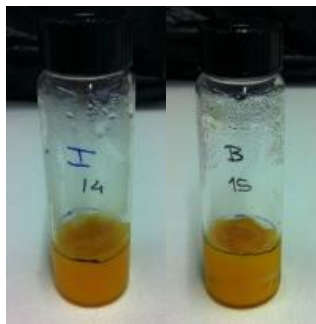


Figura 9 - Amostras: Puré inativado (à esquerda) vs. Puré inativado texturizado (à direita).

Amostras de puré texturizado com revestimento comestível

O procedimento foi equivalente ao descrito anteriormente, diferindo apenas na aplicação de 1,5 ml de solução de revestimento, na superfície do puré texturizado exposta ao *headspace* dentro dos frascos. Esta aplicação foi realizada após os 15 minutos de arrefecimento do puré texturizado/gelificado.

A formulação do revestimento consistiu numa solução de água destilada com 1% de gelano na proporção 90/10 baixo acilo/alto acilo. Dada a elevada proporção de gelano baixo acilo foi necessário introduzir iões na solução, de modo a auxiliar a gelificação (facto justificado no tópico 2.2.). Para esse fim, utilizou-se gluconolactato de cálcio.

A solução usada para formar o revestimento, foi preparada usando uma placa de agitação magnética com controlo de temperatura (ARE heating magnetic stirrer) através da mistura de 25ml de água destilada e de 0,032g de gluconolactato de cálcio, obtendo-se uma concentração de 4mM. Uma vez atingidos os 65°C foi introduzido o gelano, 0.25g na proporção definida para o revestimento, estando a solução de revestimento concluída quando o gelano se encontra bem dissolvido. Após aplicação (através de seringas de 2ml) do revestimento sobre a área de contacto com o *headspace* dos frascos, estes foram fechados e as amostras colocadas na câmara frigorífica até posterior análise.

Na figura 10 encontram-se as amostras de puré texturizado sem e com revestimento comestível, correspondentes ao estudo do impacto da aplicação do revestimento no puré texturizado, na libertação dos compostos de aroma ao longo do armazenamento. Estas amostras procuram reproduzir a barra sem e com revestimento comestível respetivamente.

É de referir que, após análise, a espessura do revestimento foi medida através de um micrómetro, Mitutoyo Lda – Andover (figura 11) sendo que a média obtida foi de 2.1mm.



Figura 10 - Amostras: Puré texturizado sem revestimento (à esquerda) vs. Puré texturizado com revestimento (à direita).



Figura 11 - Medição da espessura do revestimento através de um micrómetro.

Barras de puré texturizado com revestimento comestível para o estudo do efeito do processo de conservação

Para as barras convencionais, procedeu-se à formulação habitual, obtendo-se barras texturizadas retangulares, de 2 cm por 4 cm. Isto porque, foi objeto de estudo o efeito de dois processos de conservação, sendo que a existência de embalagem é fundamental para aplicação dos tratamentos em questão.

Para a preparação destas amostras, procedeu-se de igual forma para a obtenção do puré de manga inativado, descrito em 3.2.1. Contudo aproveitando a temperatura utilizada no binómio para realizar a inativação de enzimas, $T = 85^{\circ}\text{C}$, iniciou-se a dispersão do gelano no puré inativado, sob agitação (1100 rpm) no processador. Quando o hidrocolóide se encontrava bem disperso procedeu-se à distribuição do puré inativado em processo de gelificação, ainda à temperatura de 85°C , num molde retangular de 2 cm por 4 cm. Uma vez distribuído por todo o molde deixou-se arrefecer à temperatura ambiente, entre 15-30 minutos para ocorrer a gelificação.

Posteriormente, as barras foram imersas na solução de gelano e gluconolactato de cálcio para a aplicação do revestimento. Após imersão foram colocadas num suporte de esferovite para arrefecer e o revestimento gelificar corretamente durante 30 minutos (figura 12).

Uma vez preparadas as barras foram embaladas em embalagens de 8 cm por 12 cm, compostas por um complexo laminado de polietileno e alumínio (figura 12). Estas foram seladas no equipamento de termo soldadura, Eco-Vac 40.



Figura 12 - Barras com revestimento e embalagem utilizada.

Seguiu-se a aplicação dos dois tratamentos de conservação, antes da aplicação destes armazenaram-se a 5°C as amostras controlo, portanto sem nenhum tratamento.

3.2.3. Amostras de gelano

De modo a averiguar se as formulações de gelano utilizadas na produção da barra contribuíam com compostos de aroma nos resultados obtidos nos cromatogramas, realizaram-se amostras contendo apenas gelano para análise por cromatografia gasosa. Assim comparando os cromatogramas obtidos das amostras de gelano e das amostras de puré texturizado/barra foi possível descartar compostos de aroma que não fossem derivados do puré de manga.

Para obtenção destas amostras (figura 13) seguiu-se o mesmo procedimento e condições utilizadas para a realização das amostras de puré de manga texturizado descritas anteriormente, diferindo apenas na ausência de puré.

Procedeu-se ao aquecimento de água destilada (num copo de vidro inserido num banho com água a temperatura controlada entre 85-90°C), de seguida sob agitação (850-1100 rpm) adicionou-se 1% (da quantidade de água usada) de gelano na proporção 25/75 de baixo acilo e alto acilo, respetivamente. Após homogeneização transferiam-se 10g desta solução ainda à temperatura de 85-90°C, para quatro frascos de vidro. Depois do arrefecimento (15 min) dois destes frascos foram fechados e armazenados. Sendo que para as amostras com revestimento comestível (obtido como descrito anteriormente), este foi colocado na superfície das outras duas amostras de gelano, sendo estas posteriormente fechadas e armazenadas.



Figura 13 - Amostras de gelano: gel com 1% de gelano 25/75 ba/aa e adicionalmente com 1.5ml de revestimento de gelano ba/aa 90/10 (dois frascos à direita).

3.3. Estudo do impacto da matriz gel criada pelo gelano e do revestimento comestível na libertação dos compostos de aroma ao longo do tempo de armazenamento

Como já referido (3.2.2.), a produção do puré de manga inativado texturizado (barra) e o armazenamento destas amostras para estes estudos ocorreram nos frascos a usar posteriormente na análise dos compostos por cromatografia gasosa. Mantendo constante a área de contacto entre as amostras e o *headspace*. Estas foram armazenadas a 5°C até análise, sendo que existiram 5 tempos de análise diferentes (dias 1, 2, 3, 6 e 9).

Em cada dia foram retirados da câmara frigorífica os frascos (em duplicado) correspondentes às matrizes a analisar, consoante o estudo em questão (puré inativado não texturizado e texturizado, ou puré texturizado sem e com revestimento), sendo que as amostras para os restantes dias se mantiveram armazenadas nas mesmas condições. Pretendia-se assim, avaliar a quantidade de compostos de aroma que se encontravam presentes nas referidas matrizes em cada dia de armazenamento. As análises foram realizadas em horários rigorosos, 24h, 48h, 72h, 144h e 216h após a formulação das amostras, perfazendo um total de 9 dias de armazenamento.

Os frascos permaneceram fechados durante o tempo de armazenamento até ao dia de análise. Deste modo a libertação dos compostos voláteis do puré texturizado (barra de manga) ocorreu de modo idêntico ao que ocorreria dentro de uma embalagem fechada, existindo a possibilidade da libertação ser condicionada pela concentração/saturação de compostos no espaço de cabeça.

3.4. Estudo do impacto de dois processos de conservação no perfil de aroma e na carga microbiana da barra texturizada com revestimento comestível

3.4.1. Altas pressões hidrostáticas

O tratamento de altas pressões hidrostáticas, foi aplicado no equipamento próprio, que consiste na plataforma horizontal QFP 350L-600 da Avure 3ª geração, pertencente à empresa Frubaça, situada em Alcobaça, única empresa nacional com esta tecnologia inovadora (Figura 14). Para este tratamento as barras já embaladas, foram introduzidas no equipamento e sujeitas a duas condições: a pressão aplicada foi de 500 MPa à temperatura de 6°C (temperatura muito próxima da temperatura de armazenamento da barra de manga com revestimento), onde a variante foi o tempo de tratamento 120 e 240 segundos. Sendo que para o segundo tempo a barra com revestimento foi sujeita duas vezes ao tratamento 500 MPa durante 120 segundos, perfazendo os 240 segundos totais. Após o tratamento foram armazenadas na câmara frigorífica a 5°C.



Figura 14 - Equipamento de altas pressões hidrostáticas.

Fonte: Avure, disponível em: www.avure.com

3.4.2. Tratamento térmico

As barras embaladas, com o fim de serem tratadas termicamente, foram sujeitas a esses tratamentos por imersão num banho de água, Haake GH - LaboControle, após serem seladas na embalagem. As amostras foram imersas a 80°C e 90°C durante 2 e 5 minutos (para ambas as temperaturas) e estes tratamentos foram realizados sob o controlo de um termómetro de modo a garantir a sua correta aplicação. Sucedeu-se um arrefecimento num recipiente com

água e gelo para baixar a temperatura das barras antes de serem colocadas na câmara a 5°C até análise.

3.5. Métodos analíticos

3.5.1. Estabelecimento do método para análise dos compostos de aroma

O equipamento utilizado para análise dos compostos voláteis foi o cromatógrafo gasoso (GC) Varian 450-GC, equipado com uma coluna apolar, pertencente à Agilent Technologies, de 30 m de comprimento, 0,250 mm de diâmetro e 0,25 µm de espessura do filme, cuja fase estacionária é denominada DB-1 ou Polidimetilsiloxano (PDMS). Foi utilizado como gás de arraste o hélio, a um caudal de 1,1 ml/min. A rampa de temperatura do forno utilizada iniciou-se nos 40°C e manteve-se a esta temperatura durante 2,5 min, de seguida subiu para 200°C a uma taxa de 5°C/min e manteve-se a esta temperatura durante 5 min. Por fim a temperatura final de 240°C foi atingida a uma taxa de 10°C/min e foi mantida durante 15 min, finalizando a corrida. O detetor utilizado é o de ionização em chama cuja temperatura foi de 250°C, sendo esta também a temperatura do injetor. Estas condições utilizadas são semelhantes às encontradas na bibliografia referente à análise de compostos de aroma em manga (Malundo *et al.*, 1997; Pandit *et al.*, 2009; Pino *et al.*, 2005; Shang *et al.*, 2002) e em frutos tropicais (Cardeal *et al.*, 2005; Ibanez *et al.*, 1998).

O método de identificação dos compostos voláteis presentes nas amostras consistiu na comparação dos respetivos tempos de retenção com os de padrões de elevada pureza. Para tal, procedeu-se à injeção dos padrões pelo método *headspace*. Foram pipetados 5 µl de cada padrão para dentro de um frasco (*vial*) de 10 ml. Este foi sujeito ao aquecimento a 60°C durante 20 minutos, sendo posteriormente retirados 100 µl do *headspace* do frasco através da seringa do GC, iniciando-se a corrida aquando da injeção deste volume na coluna.

Os padrões disponíveis para a determinação dos seus tempos de retenção encontram-se descritos no anexo I, juntamente com os tempos de retenção obtidos.

Foram estudadas várias estratégias de captação dos compostos de aroma libertados pelas amostras antes de serem injetados na coluna, com a finalidade de maximizar o número de compostos detetados e as respetivas áreas no cromatograma. Neste estudo a matriz usada foi puré de manga.

Experiência 1:

As amostras foram analisadas pelo método *headspace*. Para este método colocaram-se 3 g de puré de manga em frascos (*vials*) de 10 ml. Os frascos foram aquecidos a duas temperaturas diferentes (40°C e 60°C), tendo-se testado dois tempos para cada temperatura (15 e 30 minutos). O aquecimento foi feito no equipamento de cromatografia gasosa sob agitação, cuja velocidade corresponde a 250 rpm. Após o período de aquecimento, o equipamento através de uma seringa retira o volume de 100 µl do *headspace* da amostra e este volume é injetado na coluna, iniciando a rampa de temperaturas anteriormente descrita.

Experiência 2:

Recorreu-se ao método por SPME, tendo em conta que esta fibra tem a capacidade de concentrar os compostos que adsorve. Foi utilizada uma fibra de sílica fundida revestida com 100 µm de espessura de PDMS (Polidimetilsiloxano).

Para este método as amostras foram colocadas em frascos de 40ml, pelo que se utilizou 15g de puré de manga. Os frascos foram colocados 20 minutos numa estufa a 60°C, de modo a atingirem a temperatura referida. Posteriormente foram transferidos para a placa de aquecimento a 60°C onde a fibra SPME foi exposta ao *headspace* durante 30 minutos, com agitação do puré de manga. Após este tempo a fibra foi retirada e inserida de imediato no injetor do equipamento GC, que se encontrava a 250°C para que ocorresse a dessorção dos compostos voláteis por 5 minutos - tempo de dessorção, ao fim do qual a fibra foi removida.

Experiência 3:

Nesta experiência optou-se pela utilização de um banho de água, em detrimento da estufa e da placa de aquecimento e agitação, garantindo assim um melhor controlo da temperatura aplicada à amostra. Utilizaram-se frascos com 10 g de puré de manga (a diminuição da massa de amostra não implicou um decréscimo na área de contacto) e repetiu-se a experiência nas condições anteriores: aquecimento durante 20 minutos no banho de água a 60°C, seguindo-se a exposição da fibra no *headspace* da amostra durante 30 minutos.

Testou-se ainda a exposição tripla da fibra SPME com o intuito de melhorar os resultados, isto é, expondo a fibra 3 vezes consecutivas em três frascos distintos com o objetivo de concentrar os compostos de aroma adsorvidos por esta.

Para esta última situação as amostras foram colocadas no banho com um intervalo de 10 minutos entre elas, de modo a que cada amostra estivesse 20 minutos no banho (a 60°C) e após esse tempo, a fibra fosse exposta durante 10 minutos em cada um dos frascos de modo sucessivo, perfazendo um total de exposição de 30 minutos, igualando as condições anteriores. Após a exposição da fibra, esta foi sujeita a dessorção durante 5 minutos no injetor do cromatógrafo, como referido na experiência 2.

3.5.2. Estudo do impacto do tratamento térmico para inativação de enzimas nos compostos de aroma

Para análise dos compostos de aroma nas amostras de puré fresco e de puré tratado termicamente para inativação de enzimas, isto é, puré inativado (obtidas como descrito em 3.2.1.), os respetivos frascos foram retirados da câmara frigorífica e cada frasco foi aberto durante 1 minuto, de modo a remover os compostos libertados para o *headspace* durante o armazenamento. Após a abertura e fecho, os frascos foram colocados diretamente no banho de água a 60°C durante 20 minutos para libertação dos compostos voláteis ainda incorporados na matriz da amostra para o *headspace* do frasco. Ao fim deste tempo com a amostra já a 60°C, a fibra SPME foi exposta no *headspace* para que ocorresse adsorção dos analitos durante 30 minutos. Após este período de tempo a fibra foi retirada do frasco, sendo inserida de imediato no injetor do cromatógrafo para dessorção dos compostos para a coluna, durante 5 minutos. É de referir que as amostras foram analisadas individualmente e de modo sucessivo, seguindo a ordem puré fresco e inativado. Cada tipo de puré foi analisado em duplicado.

Para as amostras contendo apenas gelado o processo analítico realizado foi idêntico ao descrito em cima.

3.5.3. Estudo da libertação de compostos de aroma a partir da barra sem e com revestimento comestível ao longo do tempo de armazenamento

A análise dos compostos de aroma nas amostras referentes a estes dois estudos foi efetuada ao longo de um período de 9 dias de armazenamento. Sendo o processo analítico análogo ao descrito em 3.5.2.

Para o estudo do impacto da texturização do puré de manga, analisaram-se as amostras de puré de manga inativado e puré de manga inativado texturizado (barra). Sendo que para o estudo do impacto da aplicação do revestimento comestível, foram analisadas as amostras puré de manga texturizado (barra) sem e com revestimento.

3.5.4. Estudo do impacto dos processos de conservação no perfil de aroma

Para análise dos compostos de aroma das barras texturizadas com revestimento comestível, estas foram retiradas da embalagem e colocou-se cerca de 5g nos frascos. Para que a área de contacto fosse muito próxima entre as diferentes amostras, utilizou-se a marisa dos frascos para recortar dois cilindros de cada barra, sendo que estes foram colocados sobrepostos dentro dos frascos com ajuda de uma espátula e posteriormente foram fechados (figura 15). O procedimento analítico, após o fecho dos frascos, foi igual ao descrito anteriormente em 3.5.2.

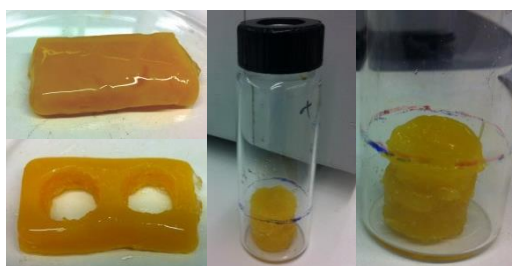


Figura 15 - Barra texturizada fora da embalagem com revestimento e colocação da amostra dentro do frasco.

3.5.5. Impacto dos processos de conservação na carga microbiológica

Para a análise de mesófilos e de fungos e leveduras, seguiu-se a ISO 4833 e a Norma Portuguesa 3277-1, respetivamente. Utilizou-se uma amostra controlo e uma amostra de cada condição dos tratamentos de conservação, sendo as análises microbiológicas realizadas em duplicado.

Para cada amostra foram recolhidas assepticamente 10 g de produto que foi inserido num saco com 90ml de diluente triptona-sal, sendo de seguida colocado no homogeneizador durante 1,5 minutos, constituindo assim a primeira diluição (10^{-1}). Posteriormente realizaram-se as diluições 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , para tal retirou-se 1ml da amostra já homogeneizada (10^{-1}) para o primeiro tubo de ensaio com 9ml de diluente, obtendo-se a segunda diluição. Após homogeneização deste último tubo, retirou-se 1 ml desta diluição e transferiu-se para o segundo tubo, obtendo-se assim a 3ª diluição, procedeu-se de igual modo para a obtenção da 4ª diluição.

Contagem de mesófilos

Após obtenção de todas as diluições procedeu-se à sementeira. Para tal homogeneizou-se o tubo de ensaio da primeira diluição e retirou-se 1ml de solução diluída para uma placa de Petri esterilizada e previamente identificada. Repetiu-se esta operação para todas as diluições por ordem decrescente. De seguida, verteu-se para cada uma das placas cerca de 15 ml do meio de cultura, agar padrão para contagem (PCA), que até então se encontrava num banho de água a 50-55°C. Procedeu-se a uma agitação da placa para frente e para trás, 5 vezes no sentido dos ponteiros do relógio, da esquerda para a direita e por fim no sentido contrário aos ponteiros do relógio. Após solidificação do meio de cultura colocaram-se as placas em posição invertida na estufa a 30°C durante 72h.

Contagem de fungos e leveduras

Após obtenção de todas as diluições procedeu-se à sementeira. Para tal homogeneizou-se o tubo de ensaio, retirou-se 0,1 ml de solução diluída para uma placa de Petri contendo o meio de cultura Cooke Rose Bengal (CRB), previamente identificada e repetiu-se esta operação para todas as diluições por ordem decrescente. Posteriormente, realizou-se o espalhamento sobre a superfície com auxílio de esferas semeadoras, sendo que as placas foram incubadas a 25°C durante 120h.

3.5.6. Medição pH e teor de sólidos solúveis

A determinação do pH e do teor de sólidos solúveis (TSS) foi realizada para os purés de manga utilizados para cada estudo. A primeira determinação foi efetuada no potenciómetro, Crison pH 20, munido de elétrodo, onde o puré foi colocado em contacto com este último. A segunda determinação foi realizada ao colocar o puré diretamente no refratómetro, Atago Pocket refractometer Pal-1.

3.5.7. Tratamento estatístico

O *software* utilizado para o tratamento estatístico dos resultados foi o Statistica 8 da Statsoft. Para se verificar a existência de diferenças significativas nas médias das áreas dos compostos para cada amostra (do estudo do impacto dos processos de conservação), efetuou-se o teste LSD (diferença mínima significativa) de Fisher, com um nível de significância de 5%.

4. Resultados e Discussão

Mediu-se o pH e os TSS de cada puré de manga preparado, de modo a verificar se haviam diferenças acentuadas entre os diferentes lotes de mangas utilizadas, sendo que os valores obtidos foram muito semelhantes (Tabela 7).

Tabela 7 - Valor médio e desvio padrão do valor de pH e teor de sólidos solúveis para os purés de manga utilizados.

	Média
pH	4,49 ±0,25
TSS	17,18 ±0,65

4.1. Estabelecimento do método para a análise dos compostos de aroma

Nas figuras 16 a 19 apresentam-se os cromatogramas obtidos na experiência 1, onde foram analisadas as temperaturas 40°C e 60°C, durante 15 e 30 minutos de incubação por *headspace*.

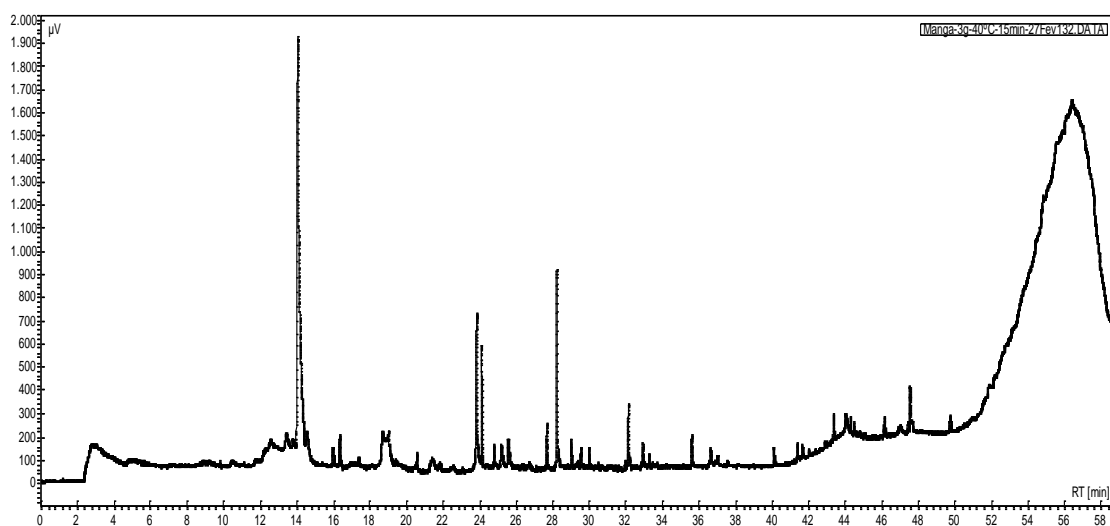


Figura 16 - Cromatograma obtido no estabelecimento do método por Headspace - Temperatura de 40°C e tempo de incubação de 15 min.

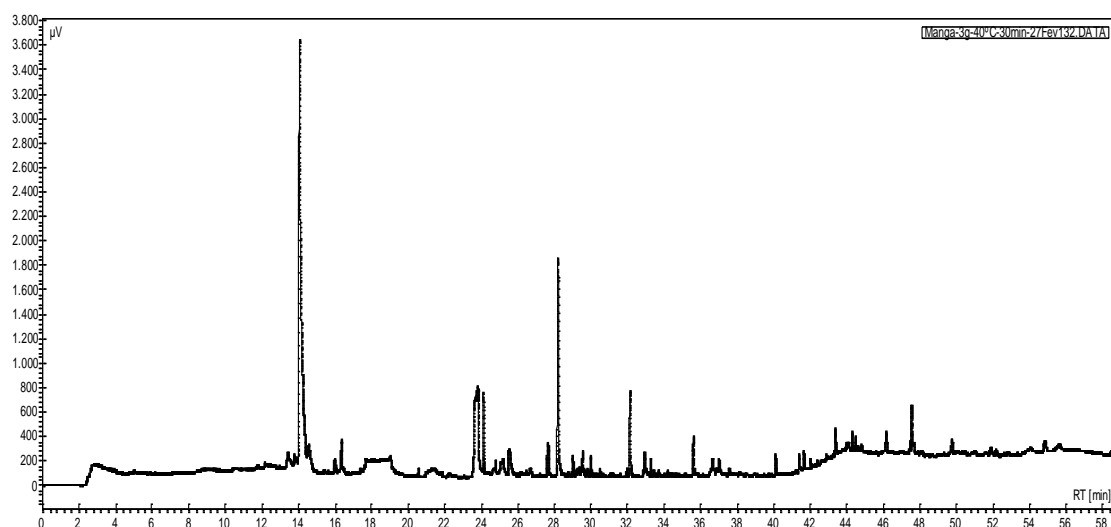


Figura 17 - Cromatograma obtido no estabelecimento do método por Headspace - Temperatura de 40°C e tempo de incubação de 30 min.

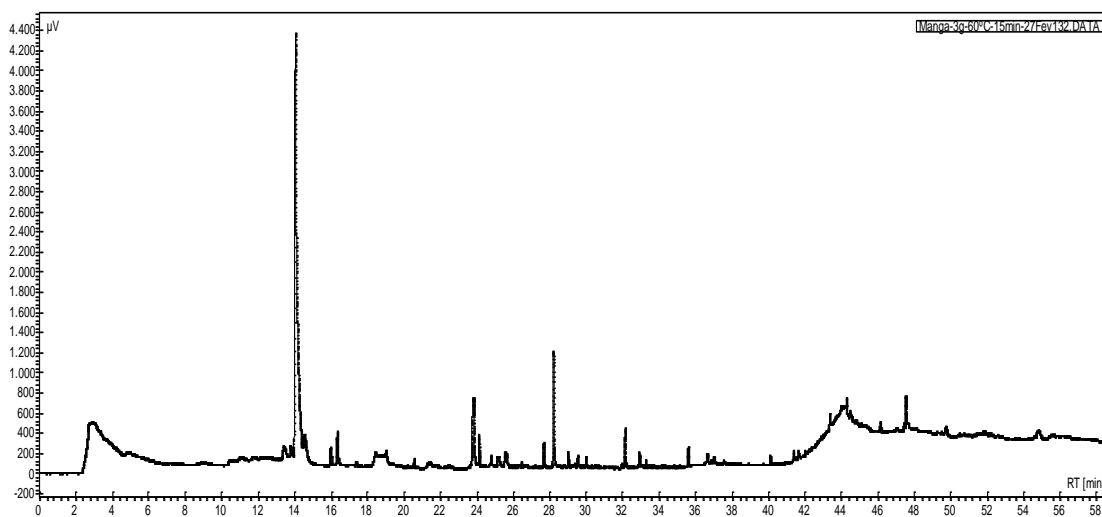


Figura 18 - Cromatograma obtido no estabelecimento do método por Headspace - Temperatura de 60°C e tempo de incubação de 15 min.

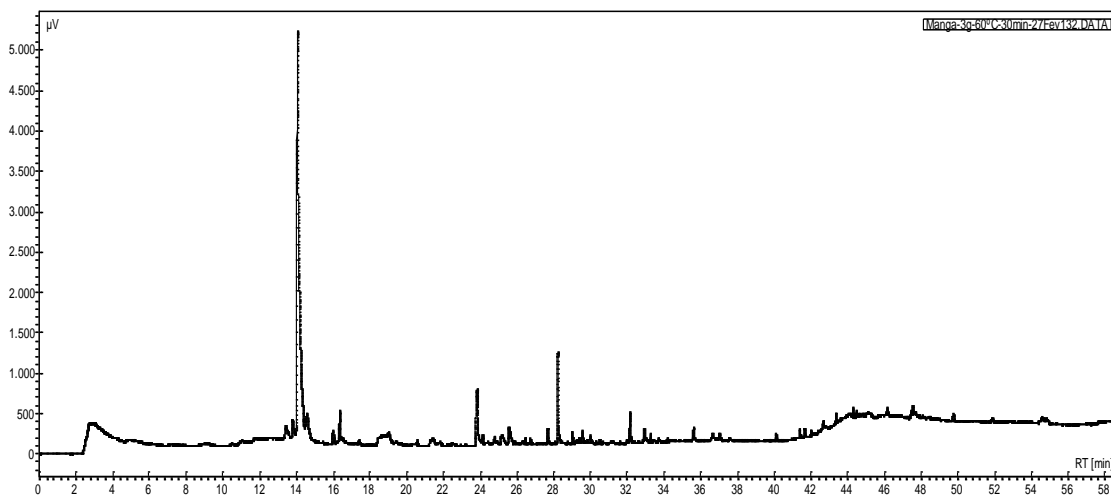


Figura 19 - Cromatograma obtido no estabelecimento do método por Headspace - Temperatura de 60°C e tempo de incubação de 30 min.

Podemos observar que mesmo quando se aplicou a temperatura mais elevada (60°C) e o maior tempo de incubação (30 minutos) (Figura 19), que a intensidade e a separação dos picos obtidos não foi muito satisfatória. Isto pode dever-se ao facto de o puré de manga já possuir alguma viscosidade natural, devido à pectina presente que possui propriedades espessantes e gelificantes (Koubala, 2008). A gelificação já foi reportada como um fator que afeta a percepção do *flavour* e a composição do *headspace* de gelificados, pois provoca uma barreira à libertação dos compostos voláteis para o *headspace* (Malundo *et al.*, 1997).

Na experiência 2, utilizou-se o método SPME com as condições que demonstraram um melhor resultado na experiência 1. Neste caso a amostra de puré foi aquecida a 60°C durante 20 min, sendo depois a fibra exposta ao *headspace* durante 30 minutos, mantendo a amostra à mesma temperatura. O cromatograma obtido encontra-se apresentado na Figura 20.

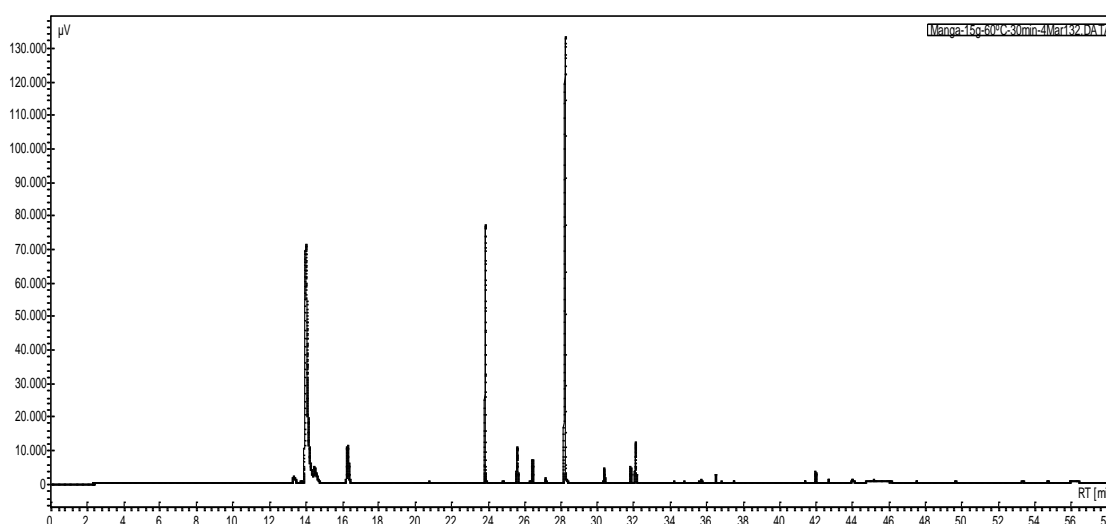


Figura 20 - Cromatograma obtido no estabelecimento do método com fibra SPME - Temperatura de 60°C e tempo de incubação de 30 minutos.

Com a utilização da fibra SPME obteve-se um cromatograma com picos de área mais elevada que na experiência 1. No entanto a placa de aquecimento utilizada para manter a amostra a 60°C após sair da estufa, não se mostrou muito eficaz para esse fim. Assim, optou-se que na terceira experiência se utilizasse um banho de água (referido em 3.4.2.) para que a amostra atingisse os 60°C de modo homogéneo. Apesar de a agitação ser um fator importante para a libertação dos compostos voláteis da amostra para o *headspace*, auxiliando o alcance do equilíbrio, foi uma condição removida ao longo do processo de otimização do método analítico. Isto porque, o banho não permite agitação e a maioria das amostras analisadas

neste trabalho prático consistem em matrizes gelificadas e não é possível o uso de agitação sem a destruição das mesmas.

Na experiência 3, os frascos com as amostras foram colocados e mantidos sempre num banho de água a 60°C. A um tempo de incubação de 20 minutos, seguiu-se a exposição da fibra ao *headspace* uma única vez (Figura 21); ou três vezes em três frascos distintos, de forma consecutiva, durante 10 min em cada frasco (Figura 22). Seria expectável que a exposição tripla pudesse originar uma maior concentração de compostos de aroma na fibra, e que resultasse num cromatograma com um maior número de picos e de maior área, o que não aconteceu.

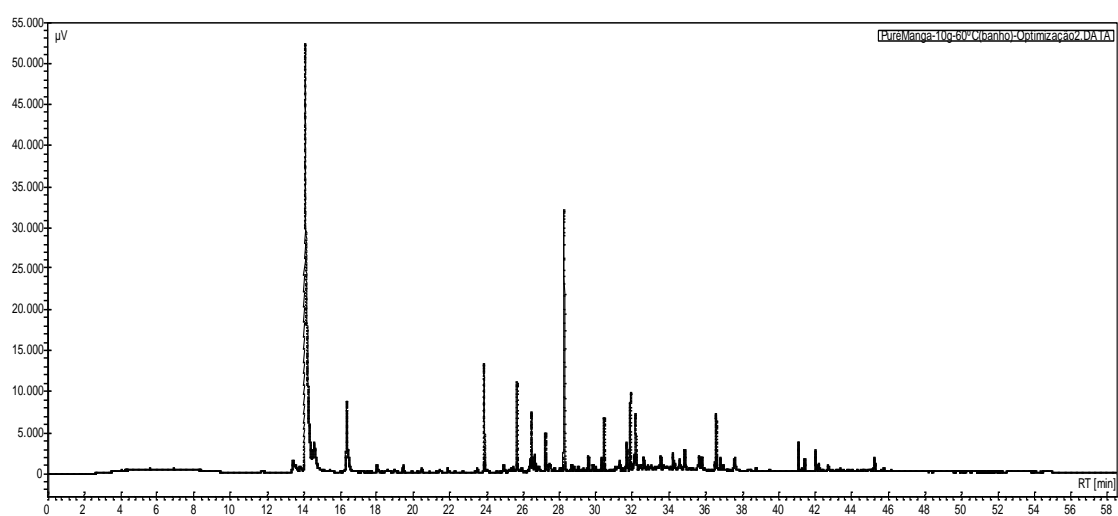


Figura 21 - Cromatograma obtido no estabelecimento do método pelo método SPME - Temperatura de 60°C e tempo de incubação de 30 minutos: Uma exposição.

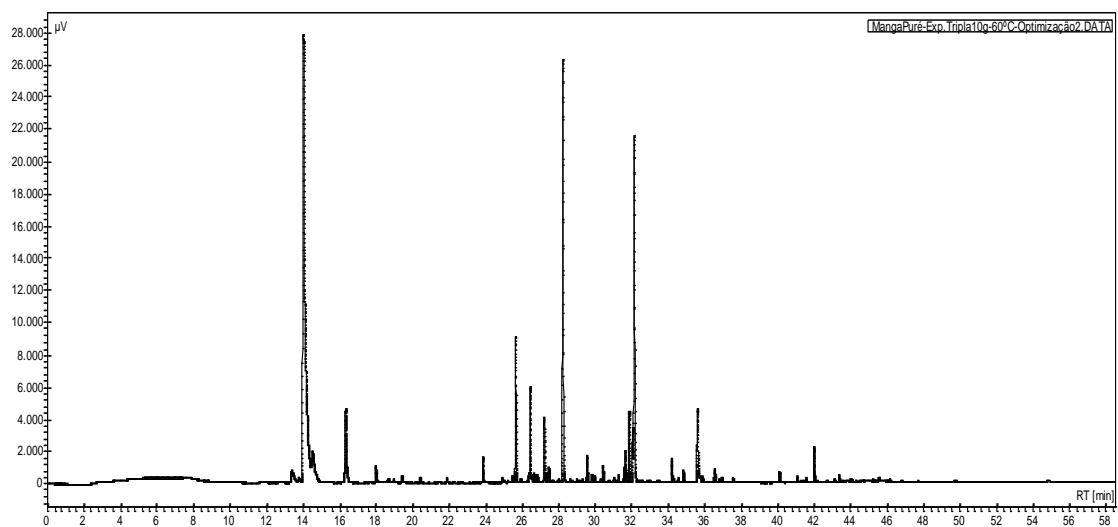


Figura 22 - Cromatograma obtido no estabelecimento do método pelo método SPME - Temperatura de 60°C e tempo de incubação de 30 minutos: Exposição tripla.

Foram comparados os dados obtidos, em termos de intensidade total dos picos, uma exposição única da fibra apresentou 261 526 μV e a exposição tripla 168 751.5 μV . Relativamente às áreas totais estas foram respetivamente, 20 784.9 $\mu\text{V}\cdot\text{min}$ e 12 857.9 $\mu\text{V}\cdot\text{min}$. Portanto, não se observa vantagem da tripla exposição da fibra sobre uma única exposição. Este facto pode estar relacionado com a perda de aromas por dessorção durante a transferência da fibra entre frascos. Deste modo, procedeu-se apenas a uma exposição da fibra SPME numa amostra/frasco no procedimento para o trabalho laboratorial.

O sinal dos picos obtido nos cromatogramas foi relativamente baixo em comparação com estudos publicados. A possível razão desta situação é a complexidade e viscosidade natural da matriz do fruto e das amostras elaboradas, a falta de agitação aquando da adsorção dos compostos voláteis pela fibra SPME e por fim, a fibra utilizada. Pontes *et al.* (2009) estudaram a capacidade de adsorção de cinco fibras diferentes, a amostra utilizada foi o maracujá da Bahia. A fibra PDMS (a mesma utilizada no presente estudo) demonstrou a menor área total de adsorção de compostos voláteis, de entre as cinco fibras estudadas.

Em resumo, as condições definidas para análise foram:

Exposição da fibra ao *headspace*

Os frascos com 10g de amostra são colocados num banho de água à temperatura de 60°C, durante 20 minutos para que a amostra atinja a temperatura do banho e se promova o equilíbrio com o espaço de cabeça da amostra (*headspace*). Após esse tempo a fibra SPME é exposta 30 minutos no *headspace*, correspondendo ao tempo de exposição para adsorção dos compostos voláteis.

Condições do equipamento GC

O tempo de dessorção dos compostos é de 5 minutos, no injetor a 250°C.

A rampa de temperatura do forno consiste: 40 °C durante 2.5 minutos, subindo para 200°C a uma taxa de 5°C/minuto e mantém esta temperatura por 5 minutos. A temperatura final de 240°C é atingida a uma taxa de 10°C/minuto mantendo-a durante 15 minutos. O detetor de ionização em chama encontra-se a 250°C, sendo o tempo total de corrida de 58 minutos.

Identificação dos compostos voláteis

Os compostos voláteis que foram possíveis de identificar (através da comparação dos tempos de retenção) foram os terpenos: 3-careno, α -terpinoleno e mentona; as lactonas: Y-decalactona, Y-octalactona e Y-undelactona; os aldeídos: 2,4-nonadienal e decanal, e por fim os álcoois: α -terpineol, geraniol e nerol. Selecionaram-se outros 2 compostos desconhecidos

para análise, pois possuíam um pico e sinal consideráveis no cromatograma, tendo sido denominados “32” e “36” devido aos seus tempos de retenção.

Contudo os tempos de retenção referentes aos compostos Y-undelactona e 32 foram identificados nas amostras de gelano (anexo I), indicando que estes compostos apesar de presentes nas matrizes de puré de manga, puré de manga texturizado e na barra, não têm origem somente na manga. Surgem algumas hipóteses para o sucedido, estes compostos existem também na composição do gelano ou são compostos diferentes que apresentam tempos de retenção idênticos. Podem ainda dever-se a contaminações da fibra SPME ou da coluna do GC.

Dado que antes da realização de cada ensaio a fibra foi acondicionada (limpa) a 250°C no injetor do GC e nos cromatogramas obtidos (referentes ao acondicionamento) esses picos não se encontram presentes, a hipótese mais viável é que o sucedido seja devido a uma contaminação da coluna. Assim sendo estes dois compostos não foram avaliados como compostos responsáveis pelo *flavour* do produto da barra texturizada de manga.

4.2. Estudo do impacto do tratamento térmico para inativação de enzimas nos compostos de aroma

O primeiro ensaio consistiu na avaliação do impacto do tratamento térmico no puré de manga para inativação de enzimas. Este foi realizado com o objetivo de inativar as enzimas polifenol oxidase (PPO) e a peroxidase (POD), relacionadas com a alteração da cor do fruto, tendo um papel importante na degradação do mesmo devido ao escurecimento enzimático (Liu *et al.*, 2013). A PPO também pode alterar o *flavour* e o aroma de produtos hortofrutícolas, sendo a atividade desta enzima controlada através de processamento térmico, refrigeração, agentes anti-escurecimento e inibidores enzimáticos. Produtos como frutos enlatados e sumos de fruta são processados a temperaturas superiores a 80°C para eliminar enzimas oxidativas, como a PPO (Buckow *et al.*, 2009), contudo esta temperatura pode alterar os compostos de aroma. Nas figuras 23 e 24, representa-se graficamente a comparação dos compostos voláteis no puré de manga fresco e no puré após a inativação de enzimas, tratamento realizado a 85°C durante 20 segundos. No anexo II, encontra-se um cromatograma de cada uma destas amostras, e no anexo III, apresentam-se as médias e desvios padrões resultantes.

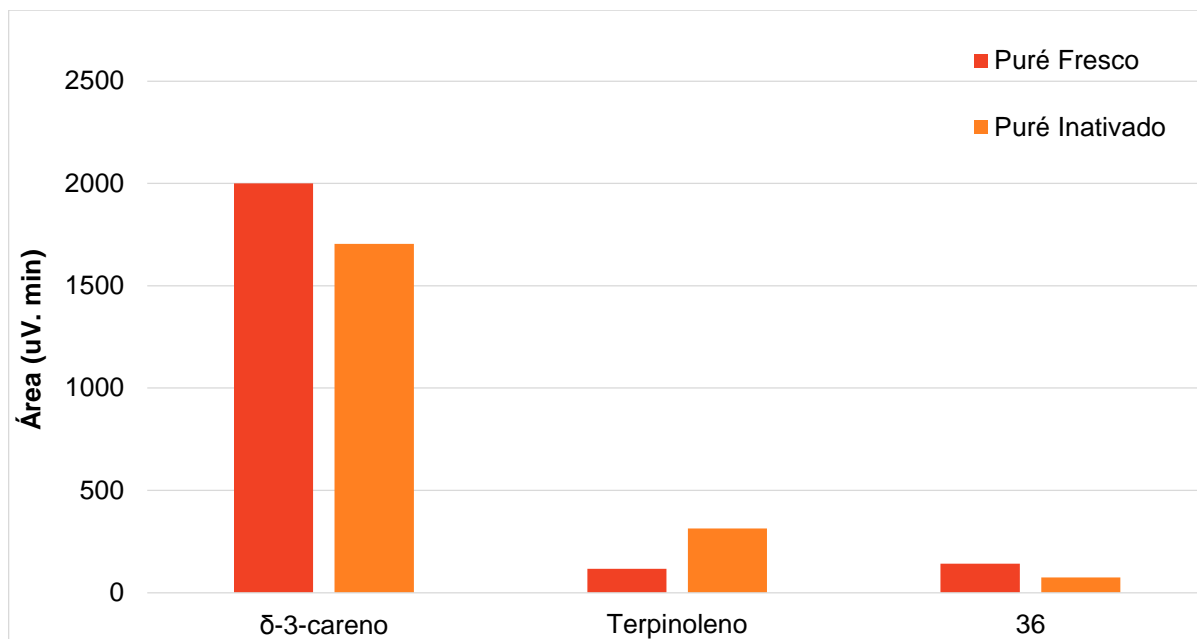


Figura 23 - Impacto da inativação térmica nos compostos voláteis identificados (I).

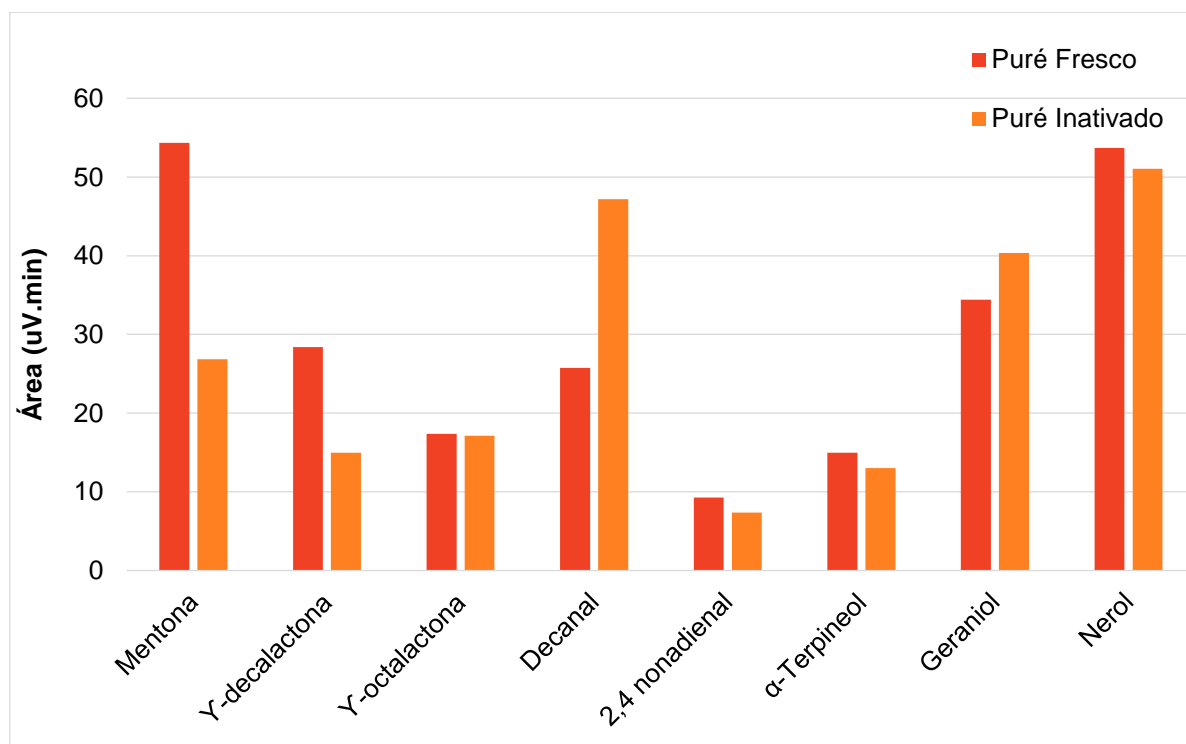


Figura 24 - Impacto da inativação térmica nos compostos voláteis identificados (II)

Podemos observar que há uma tendência de decréscimo da quantidade dos compostos presentes no puré de manga após o tratamento para inativação de enzimas, contudo esta é

pouco acentuada. Estes resultados podem ser explicados pela sua perda por evaporação e/ou por terem sofrido uma reação de isomerização durante o tratamento térmico.

Existem no entanto três exceções: o terpinoleno, o decanal e o geraniol, em que houve um aumento da área dos picos correspondentes no puré tratado para inativação de enzimas. Ainda assim, as diferenças não são intensas, o que deve estar relacionado com o tempo de atuação do binómio temperatura-tempo selecionado. Chauhan *et al.* (2010) realizaram um estudo a sumos de maracujá, cujo alvo foi o impacto dos binómios temperatura-tempo: 75°C/60 s, 80°C/41 s e 85° C/27 s. Nesse estudo foram monitorizados 4 compostos voláteis através da cromatografia gasosa, pela técnica SPME e concluiu-se que o teor destes quatro compostos sofreu um decréscimo com a aplicação dos binómios referidos. Sendo que o binómio de 85°C aplicado durante 27 segundos, resultou em alterações mínimas no que diz respeito ao teor dos compostos voláteis e o binómio com temperatura mais baixa mas com maior tempo de aplicação, mostrou ser o mais prejudicial para os compostos voláteis avaliados.

4.3. Estudo do impacto da matriz gel criada pelo gelano na libertação dos compostos de aroma ao longo do tempo de armazenamento

Nas Figuras 25 a 29 representa-se graficamente a variação da área de cada composto volátil, ao longo do tempo de armazenamento, no puré de manga inativado e no puré de manga inativado texturizado com gelano, barra.

As áreas representadas para cada composto indicam e contabilizam o composto que é libertado da matriz e adsorvido pela fibra, durante a análise. Isto é, relacionam-se com a quantidade de compostos de aroma que ainda residem na matriz (puré de manga inativado ou barra) em cada dia de análise. No anexo II, encontra-se um exemplo de um cromatograma de cada uma das amostras, e no anexo III, apresentam-se as médias e desvios padrões resultantes.

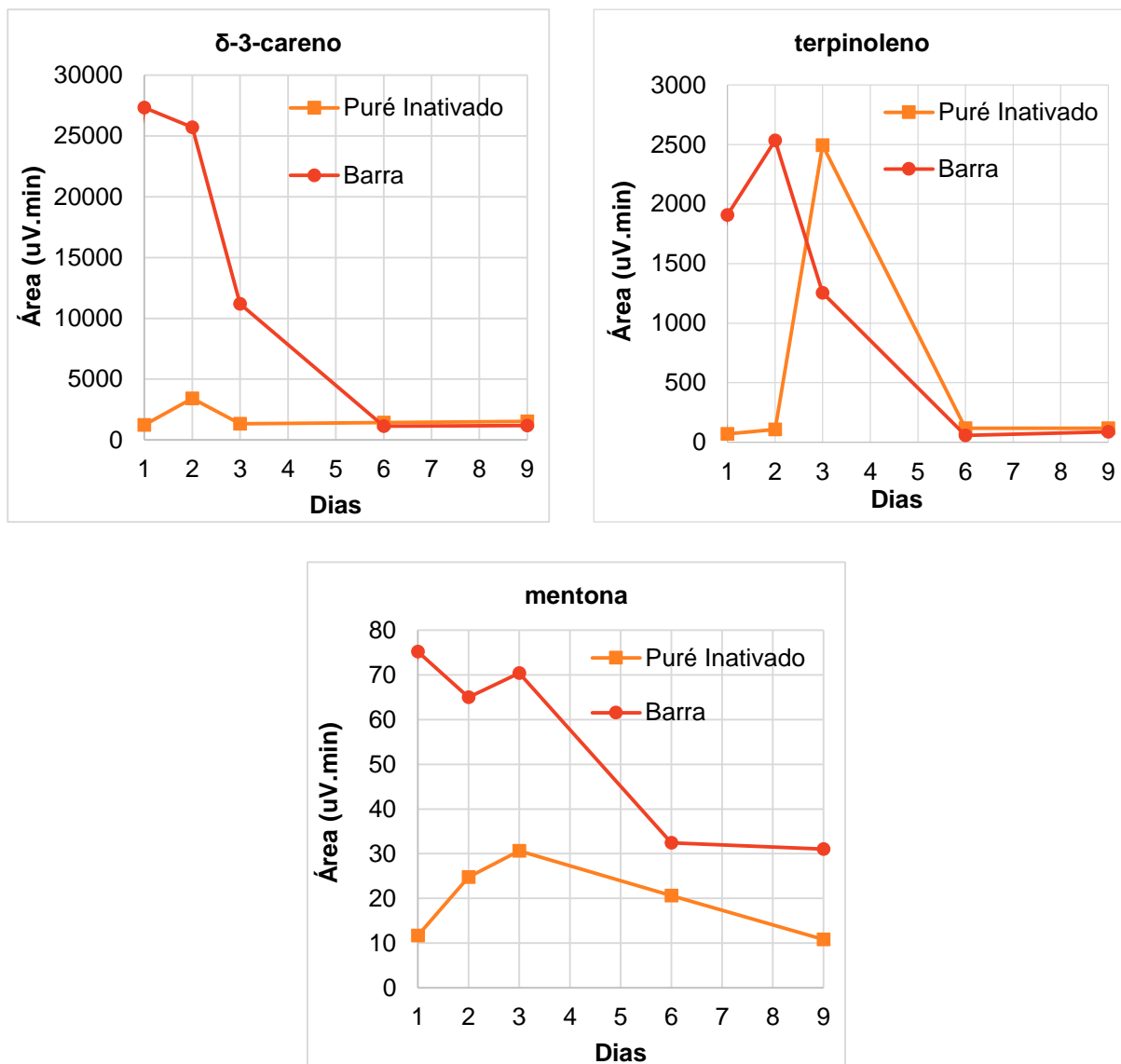


Figura 25 - Puré inativado vs. Barra: Variação das áreas médias dos terpenos.

Através da observação dos gráficos (figura 25), é perceptível que a barra tem uma maior capacidade de reter os terpenos (identificados) nos primeiros dias de armazenamento. Isto é, as áreas obtidas para a barra foram superiores às do puré inativado, significando que durante o armazenamento a barra reteve mais os compostos na sua matriz, libertando-os em maior quantidade durante o processo de aquecimento na análise realizada por cromatografia gasosa. Nos últimos dois dias o puré inativado e a barra possuem um comportamento muito semelhante, onde a quantidade de compostos presentes nas duas matrizes decresce consideravelmente. É de notar a grande diferença que se apresenta entre as duas matrizes referentes ao composto 3-careno, seria necessário repetir este ensaio de modo a obter uma maior reprodutibilidade destes dados e de reforçar o resultado obtido.

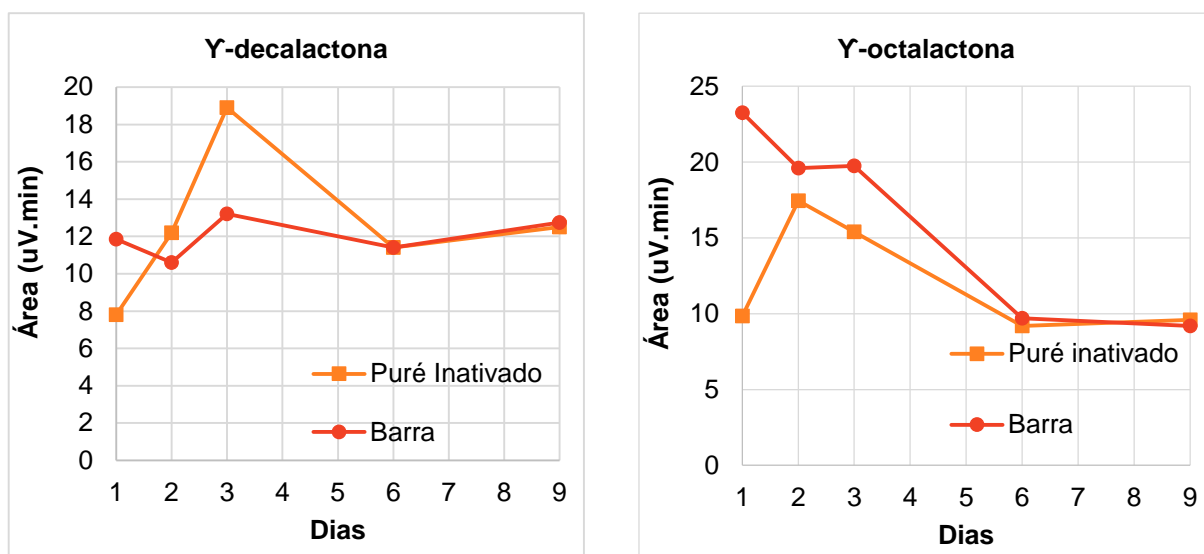


Figura 26 - Purê inativado vs. Barra: Variação das áreas médias das lactonas.

Em relação às lactonas (figura 26) podemos observar que o purê e a barra apresentam uma capacidade de retenção de compostos voláteis muito idêntica, as variações obtidas entre as amostras são muito pequenas. Para esta classe de compostos, a texturização do purê de manga inativado parece não favorecer de forma diferenciada a sua retenção na matriz.

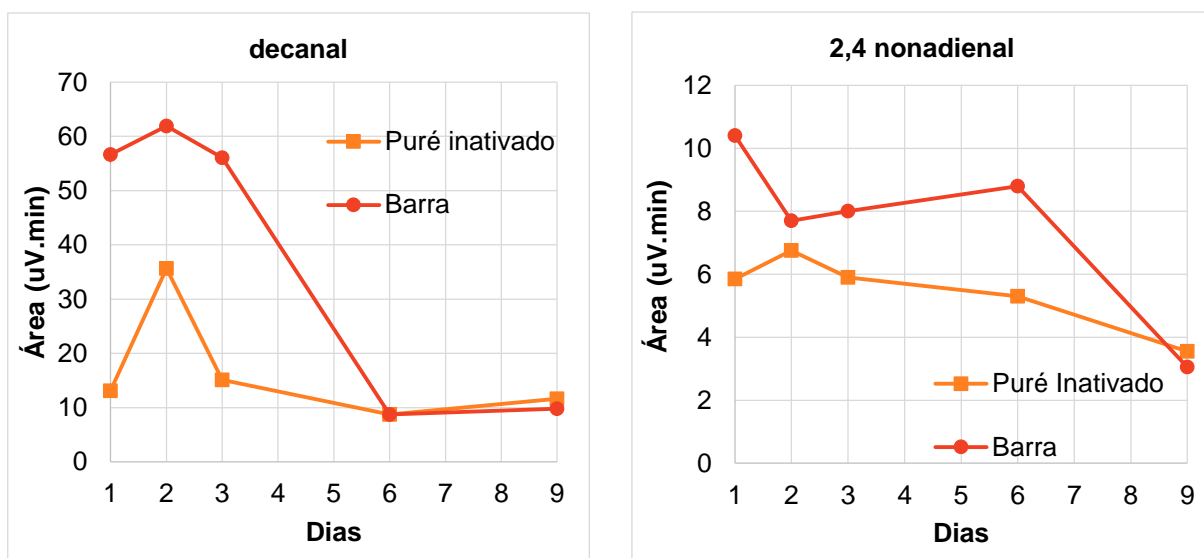


Figura 27 - Purê inativado vs. Barra: Variação das áreas médias dos aldeídos.

Na figura 27 observa-se que o aldeído decanal possui um comportamento semelhante ao dos terpenos (identificados), onde a barra têm maior capacidade de o prender na matriz ao longo

dos três primeiros dias sendo que essa retenção diminui nos últimos dias de armazenamento igualando a retenção conseguida pelo puré inativado. No que diz respeito ao 2,4-nonadienal, este comporta-se como as lactonas onde o efeito da matriz gel não teve impacto expressivo na retenção deste composto.

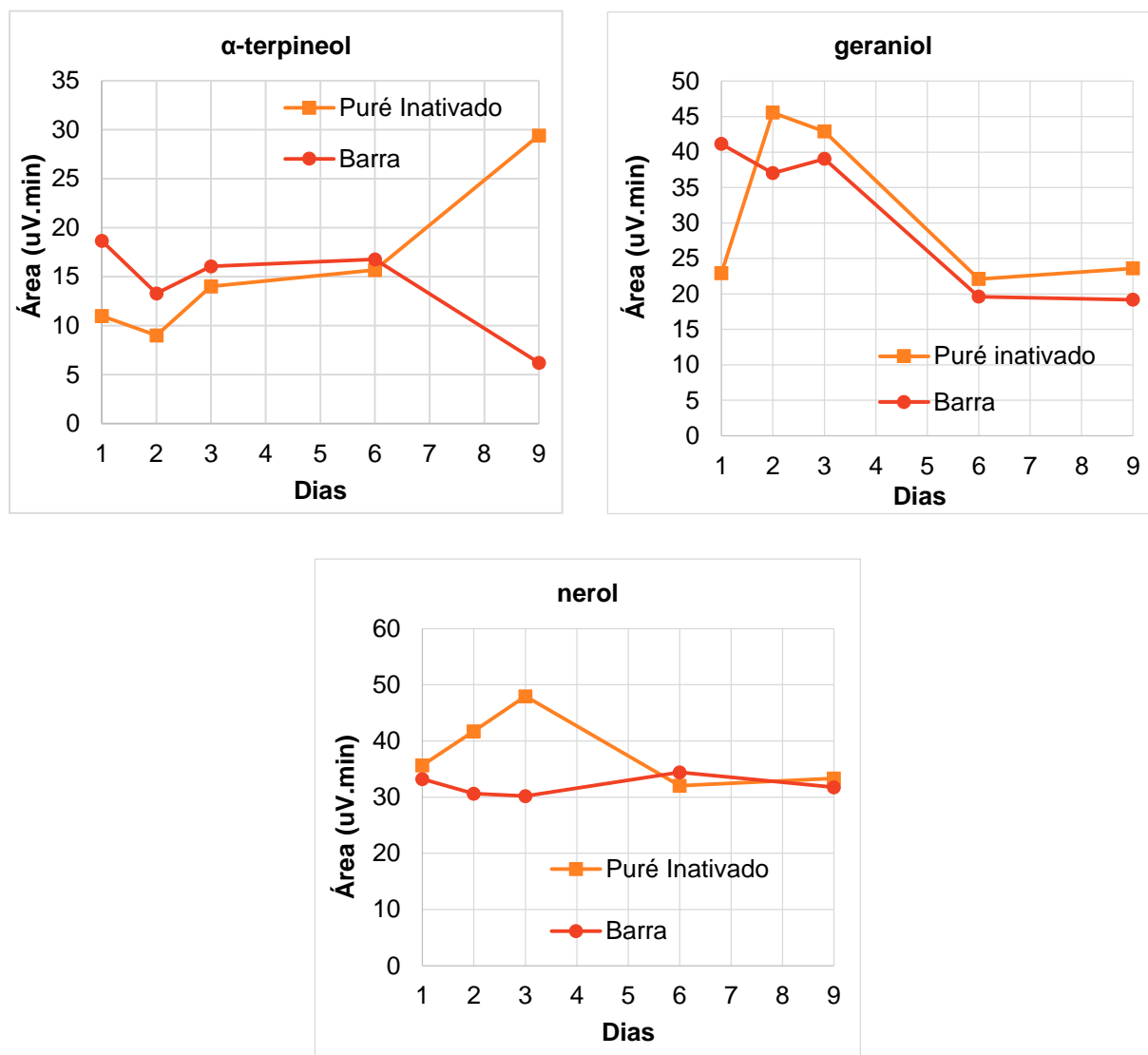


Figura 28 - Puré inativado vs. Barra: Variação das áreas médias dos álcoois.

De igual modo a retenção dos álcoois (figura 28) por parte do puré inativado e da barra mostra-se muito idêntica, pelo que se pode enunciar mais uma vez, que matriz gel não favoreceu a retenção destes compostos, face à observada pelo puré inativado.

Observa-se um aumento da área referente ao composto α -terpineol no último dia de análise no puré inativado. Este facto pode ser devido à conversão do linalool e limoneno em α -

terpineol, tal facto foi mencionado num estudo referente a armazenamento de sumos de citrinos (Haleva-Toledo *et al.*, 1999). Porém, o linalool e o limoneno não foram identificados nas amostras analisadas, pelo que não se pode confirmar essa hipótese. Contrariamente, na amostra da barra texturizada também no último dia de análise, denota-se um decréscimo do mesmo composto (α -terpineol), uma hipótese para estas duas situações opostas nas duas matrizes estudadas, pode prender-se com o facto de o puré inativado consistir numa matriz mais fluída e portanto os compostos voláteis de certa forma estão mais livres, facilitando a ocorrência de reações de conversão destes em α -terpineol quando comparadas com a matriz gel.

Para o composto desconhecido 36 (Figura 29), observa-se que o puré inativado demonstra maior retenção deste composto ao longo do armazenamento, dado que em cada instante de análise se obtém uma área do pico sempre superior à obtida para a barra. Talvez exista uma maior afinidade/interação entre este composto e a matriz gel resultando numa menor libertação (durante a análise) face à outra matriz.

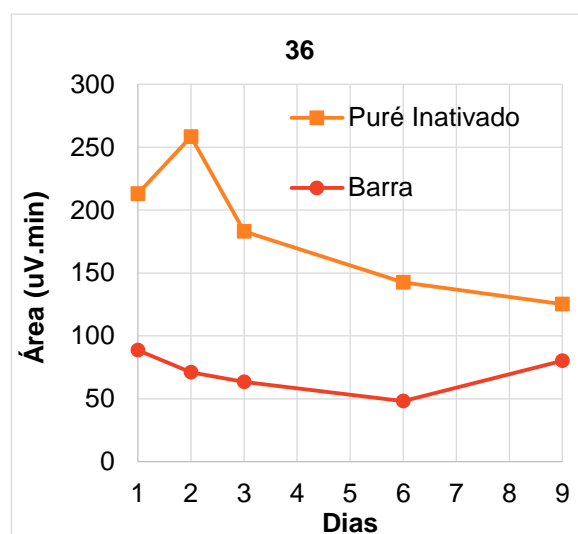


Figura 29 - Puré inativado vs. Barra: Variação das áreas médias do composto não identificado (36).

É notório que alguns compostos apresentam um maior sinal durante a análise no 2º/3º dia de armazenamento (exibida por um pico no(s) dia(s) referido(s)). Uma hipótese para o sucedido consiste na suposição de que os compostos se encontram mais retidos na matriz durante o primeiro dia de armazenamento, e que ao longo do tempo a matriz se tenha modificado de certa forma, permitindo uma libertação mais facilitada dos compostos presentes na mesma (no 2º e 3º dia) para o *headspace* durante a análise.

No 6º e 9º dia não se verificam estes picos porque durante o armazenamento os compostos são libertados para o frasco, e este sendo aberto antes da análise faz com que esses compostos, presentes no *headspace*, saiam do frasco. Assim, apenas se contabiliza os compostos que permanecem na matriz nesses dias.

No estudo realizado por Lalel *et al.* (2003), os compostos voláteis da cultivar de manga *Kensington Pride*, demonstraram uma tendência idêntica. Nomeadamente os compostos que apresentam a sua libertação máxima no 3º dia de armazenamento foram os terpenos: α -pineno, mirceno, limoneno e p-cimeno. Estes compostos não foram identificados nas amostras do presente trabalho, supõe-se que devido ao seu teor baixo, e dada a dificuldade já referida da cromatografia gasosa em obter sinais reduzidos. O terpeno 3-careno nesse estudo apresentou um comportamento semelhante ao observado neste trabalho na barra texturizada, decrescendo ao longo do armazenamento (figura 25). Já o teor do composto terpinoleno, no estudo feito por Lalel *et al.* (2003), aumenta ligeiramente até ao 8º dia de armazenamento e só após esse dia é que revela um decréscimo.

Num outro estudo de manga realizado por Beaulieu & Lea (2003), foram armazenados cubos de manga fresca durante um período de 11 dias e os teores destes dois compostos (3-careno e terpinoleno) também apresentaram uma diminuição gradual ao longo do tempo.

No geral podemos observar que o puré de manga inativado (não texturizado) e o texturizado com gelano (barra), possuem uma capacidade de retenção dos aromas muito semelhante. Este facto será positivo, na medida em que, aquando da ingestão e degustação da barra texturizada de manga, o consumidor poderá não notar diferenças sensoriais significativas em termos de perfil aromático, em comparação à ingestão do fruto em si. No entanto, a texturização não introduz a vantagem de, no que diz respeito ao armazenamento, possibilitar a retenção dos aromas no produto por um tempo mais longo.

Note-se ainda que os compostos comportam-se de maneira independente entre si, não indo de encontro ao pressuposto de que compostos da mesma classe se comportariam de modo análogo.

4.4. Estudo do impacto da aplicação de um revestimento comestível na barra texturizada na libertação dos compostos de aroma ao longo do tempo de armazenamento

Os revestimentos comestíveis têm um potencial de prolongar o tempo de prateleira e a qualidade de alimentos, ao prevenir alterações na textura, aparência (Sothornvit &

Rodsamran, 2008) e no aroma, principalmente ao evitar a perda dos compostos voláteis do produto onde foi aplicado (Olivas & Barbosa-Cánovas, 2005).

Nas figuras 30 a 34 representa-se graficamente a variação da área de cada composto volátil ao longo do tempo de armazenamento na barra sem revestimento e na barra com revestimento de modo a averiguar o efeito deste na retenção dos compostos. Os tempos de análise foram os mesmos que no ensaio anterior. Mais uma vez, as áreas representadas para cada composto relacionam-se com a massa de composto que é libertado da matriz e adsorvido pela fibra durante a análise; que por sua vez se relaciona com a quantidade de composto que ainda reside na matriz em cada dia de análise.

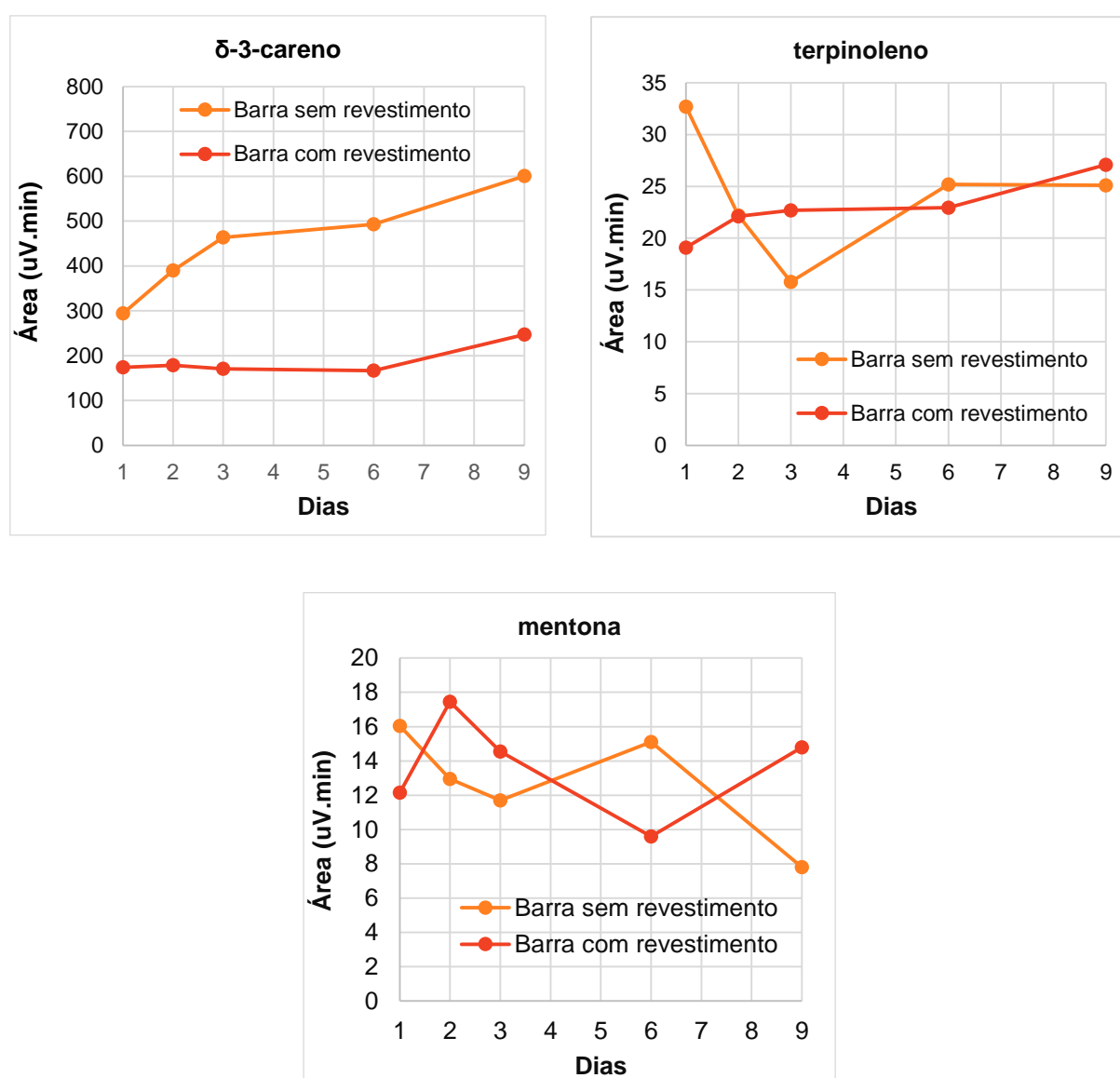


Figura 30 - Barra sem revestimento vs. Barra com revestimento: Variação das áreas médias dos terpenos.

Para o 3-careno é possível observar que no caso da barra com revestimento se obtém uma área inferior ao longo de todo o tempo de armazenamento. Este facto pode estar relacionado com a maior dificuldade do 3-careno se transferir para o *headspace* durante a análise, devido à resistência oferecida pelo revestimento. No entanto nos outros terpenos (figura 30), terpinoleno e mentona, vemos que a presença do revestimento não apresenta esse efeito.

Durante todo o tempo de armazenamento a lactona γ -decalactona (figura 31) comporta-se de forma semelhante na barra com e sem revestimento. Já o gráfico correspondente ao composto γ -octalactona sugere uma ligeira retenção por parte da matriz da barra com revestimento, contudo sendo as diferenças entre as duas matrizes apresentadas reduzidas, admite-se que a libertação deste composto é idêntica em ambas as matrizes.

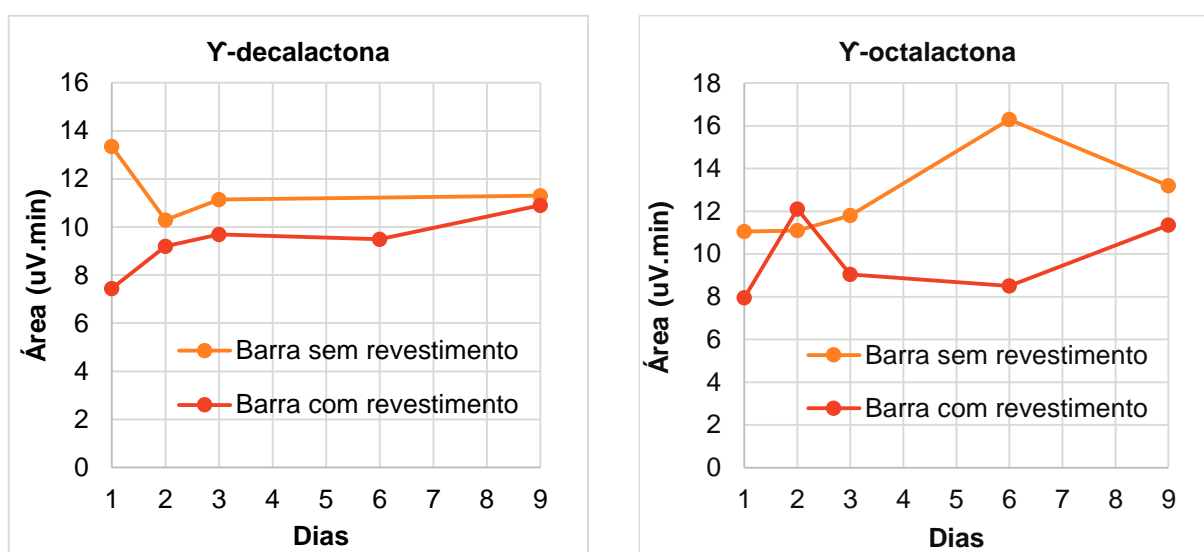


Figura 31 - Barra sem revestimento vs. Barra com revestimento: Variação das áreas médias das lactonas.

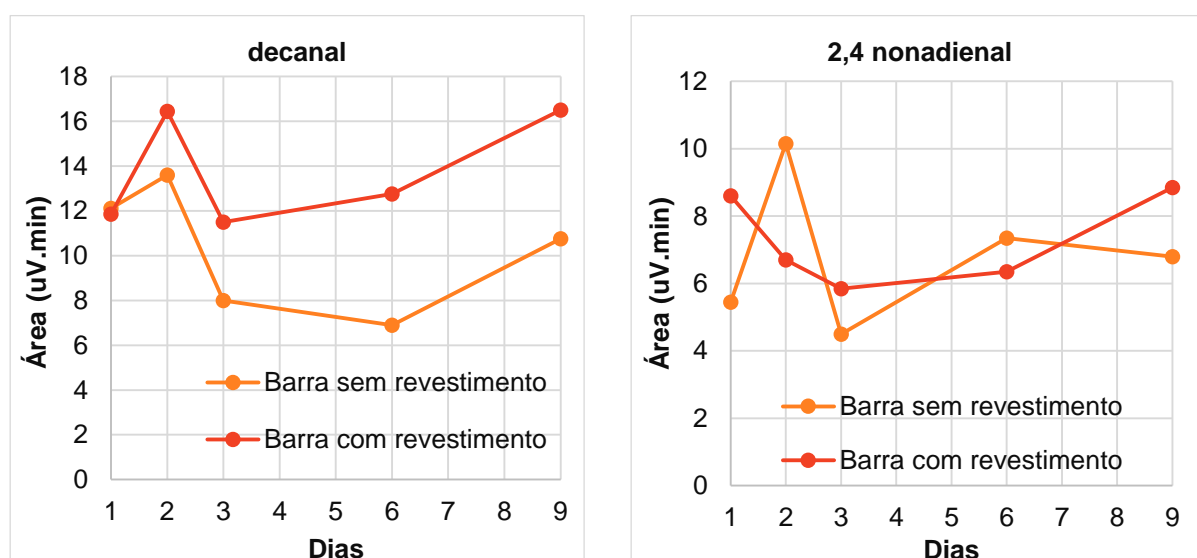


Figura 32 - Barra sem revestimento vs. Barra com revestimento: Variação das áreas médias dos aldeídos.

Também os aldeídos (figura 32) não apresentam diferenças consideráveis entre as duas matrizes analisadas, pelo que a presença do revestimento não oferece resistência à libertação destes compostos não produzindo o efeito de retenção desejado.

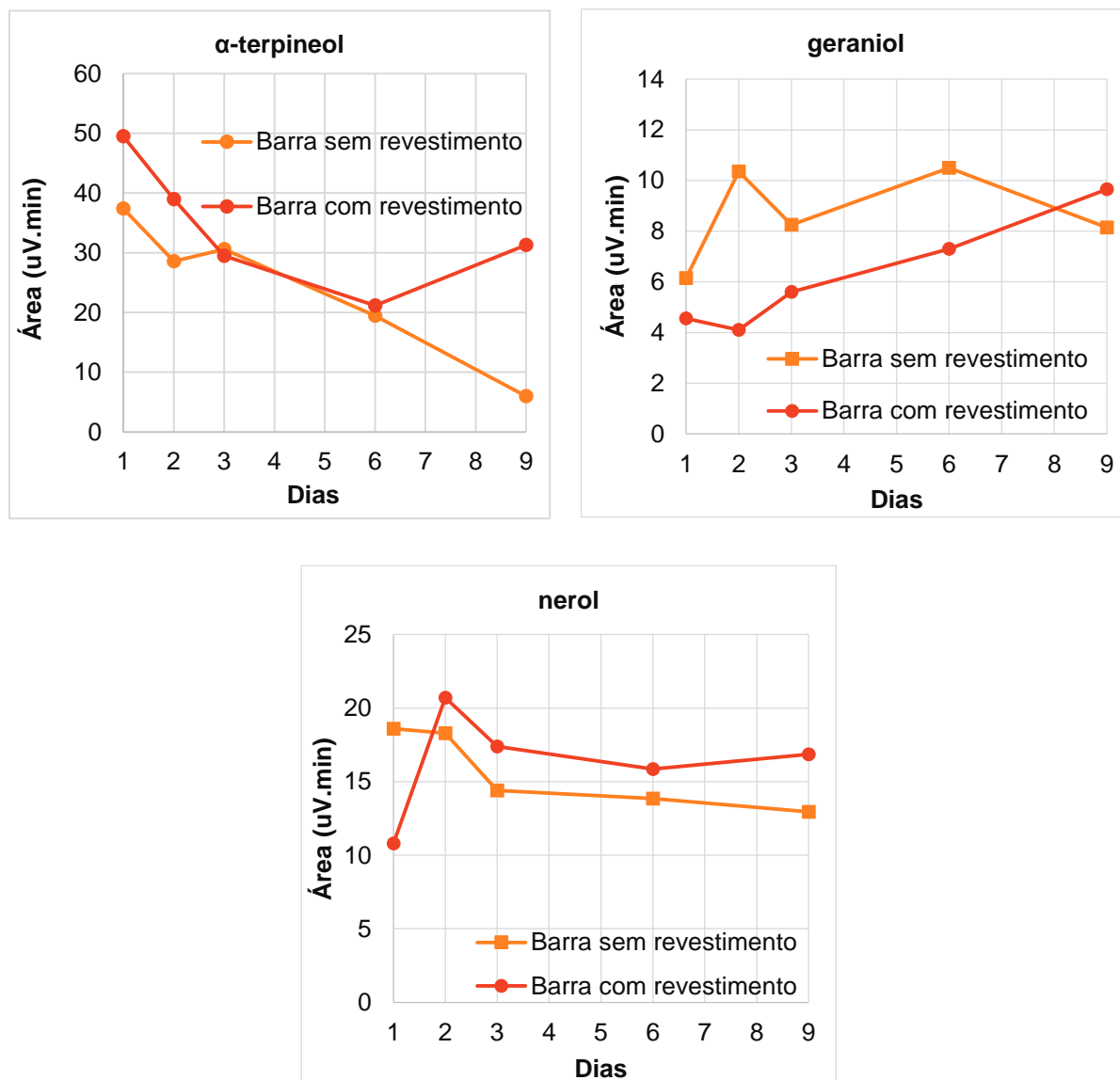


Figura 33 - Barra sem revestimento vs. Barra com revestimento: Variação das áreas médias dos álcoois.

Os álcoois (figura 33), tais como os compostos anteriores, não apresentam diferenças significativas entre as duas matrizes, pelo que a sua libertação foi análoga na barra com e sem revestimento, uma vez que as diferenças entre ambas as amostras são diminuídas. Denota-se mais uma vez um pequeno acréscimo do álcool α -terpineol no último dia de armazenamento.

Na figura 34 é evidente que o revestimento aprisiona o composto 36 na barra texturizada ao longo dos 9 dias de armazenamento e durante a análise, havendo uma libertação muito superior deste composto durante a análise da barra sem revestimento.

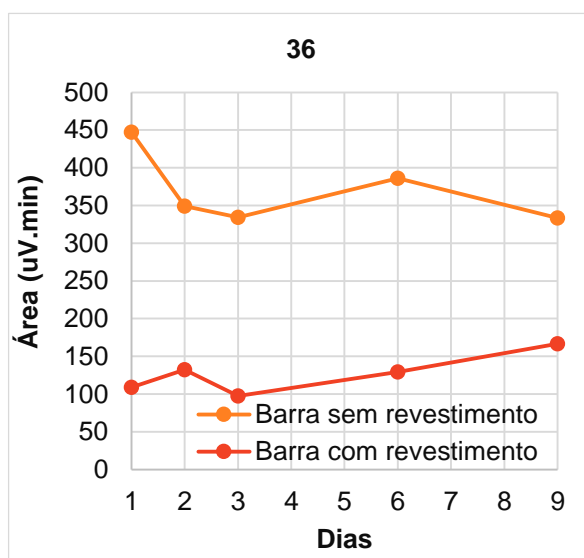


Figura 34 - Barra sem revestimento vs Barra com revestimento: Variação das áreas médias do composto desconhecido (36).

Para um escasso número de compostos, o revestimento aplicado na barra manifesta uma determinada capacidade de retenção dos mesmos no produto texturizado, dado o sinal obtido durante a análise ter sido superior na barra sem revestimento. Paralelamente, para a grande maioria dos casos, a libertação dos compostos mostra-se muito idêntica nestas duas amostras, fazendo crer que o revestimento não surte o efeito desejado no que diz respeito a manter aprisionados os compostos voláteis no produto durante o armazenamento, de modo a manter também o *flavour* da barra de manga. Este resultado deve-se possivelmente ao facto do revestimento consistir numa matriz dinâmica e numa fraca barreira ao vapor de água. O revestimento ao longo do armazenamento perde alguma hidratação e sendo a manga constituída por mais de 80% de água, esta desidratação do revestimento é compensada pela água proveniente do puré de manga texturizado. Deste modo a água consiste num meio de difusão pelo qual os compostos de aroma da barra podem atravessar o revestimento.

Como mencionado no enquadramento teórico (2.2), segundo estudos publicados por Morris *et al.* (2012) e Koliandris *et al.* (2008) a excelente capacidade de libertação do *flavour* do hidrocolóide gelano deve-se à fragmentação dos géis por ele formado. Tendo em conta que o objetivo deste estudo foi perceber se durante o armazenamento da barra texturizada, o gel criado pelo gelano e a aplicação do revestimento detinham ou não aptidão de aprisionar os

compostos voláteis durante um maior período de tempo, as análises efetuadas por cromatografia gasosa não comprometeram a amostra, a sua estrutura permaneceu inalterada não havendo destruição das amostras estudadas. Foi avaliado apenas, o equilíbrio entre a superfície da amostra e o *headspace* do frasco, pelo que o facto apresentado por Morris *et al.* (2012) e Koliandris *et al.* (2008) não pôde ser comprovado pelo estudo aqui presente.

4.5. Estudo do impacto dos processos de conservação no perfil de aroma e na carga microbiana

De modo a perceber a influência dos processos de conservação nos compostos voláteis da barra com revestimento, fez-se uma comparação entre barras controlo (sem qualquer tratamento) e as barras sujeitas aos dois tratamentos: altas pressões hidrostáticas e tratamentos térmicos.

Não obstante de existirem apenas duas réplicas, optou-se pelo uso da estatística ANOVA (teste LSD Fisher), como indicativo da ocorrência de diferenças significativas entre os vários tratamentos aplicados. Como tal a cada amostra encontra-se associada uma letra e para cada composto letras diferentes representam diferenças significativas entre as amostras (tratamentos).

4.5.1. Impacto no perfil de aroma

Apresenta-se nas figuras 35 e 36 os resultados obtidos para as barras controlo, isto é, sem qualquer tratamento, e para as barras tratadas por HHP a 500 MPa durante 120 e 240 segundos.

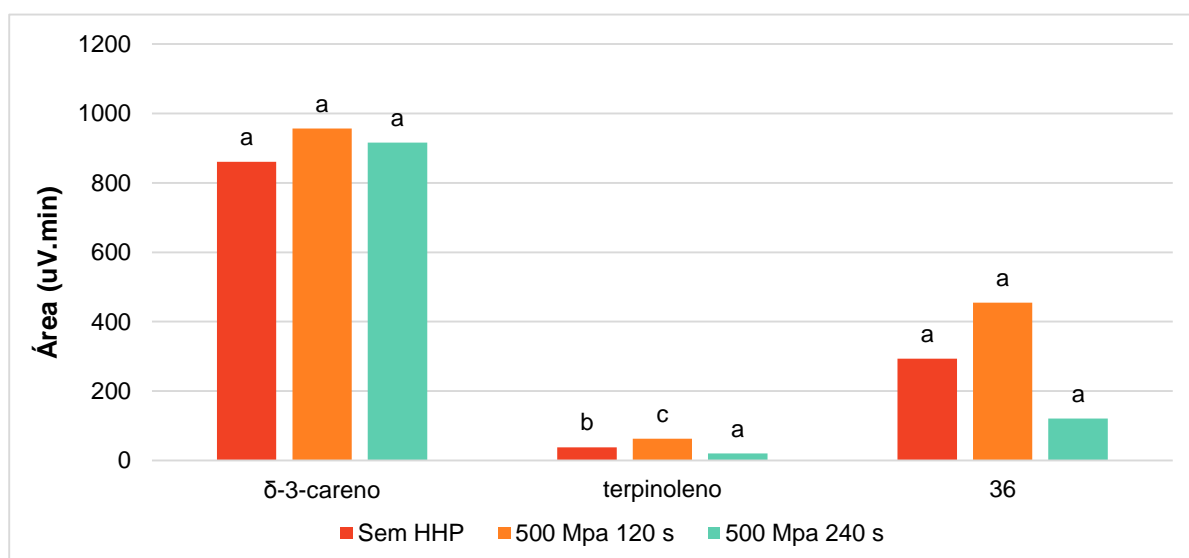


Figura 35 - Impacto do tratamento por altas pressões hidrostáticas nos compostos voláteis da barra texturizada com revestimento (I).

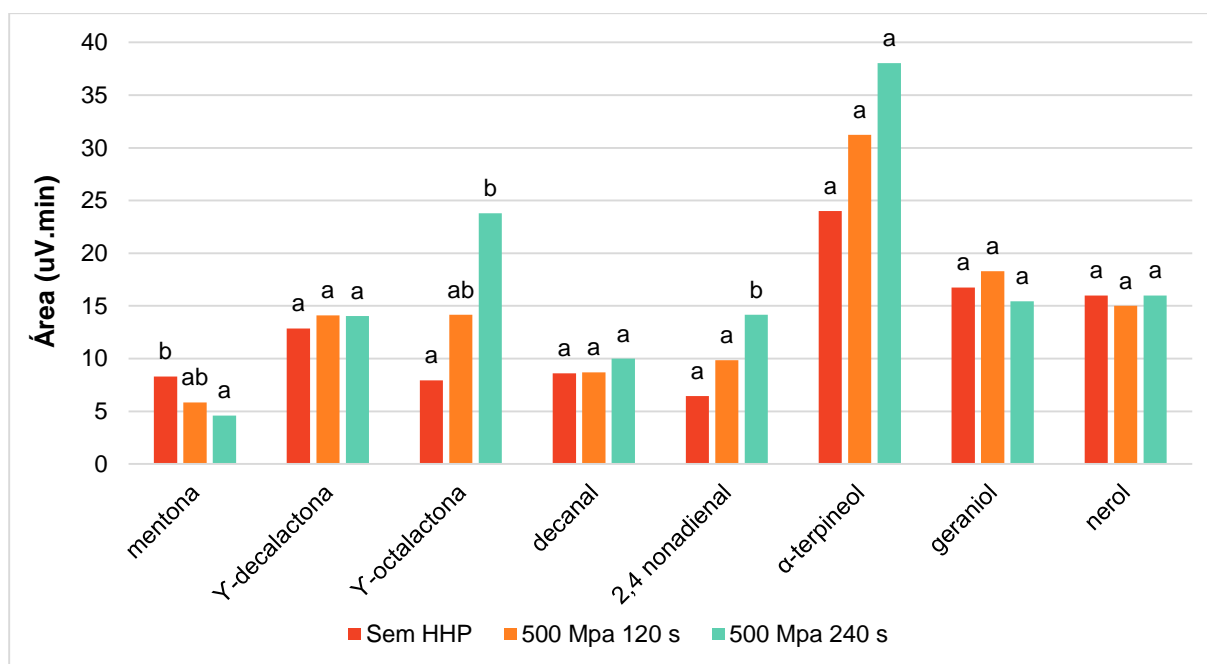


Figura 36 - Impacto do tratamento por altas pressões hidrostáticas nos compostos voláteis da barra texturizada com revestimento (II).

É possível observar que para as lactonas e os álcoois, a aplicação de altas pressões não afeta significativamente a libertação desses compostos a partir da matriz, à exceção da γ -octalactona em que se verifica um aumento da sua libertação, sobretudo com aplicação das altas pressões hidrostáticas durante 240 segundos. O comportamento observado do composto α -terpineol é semelhante ao reportado num estudo de sumo de laranja feito por Baxter *et al.* (2005), onde o teor deste composto se manteve constante após a aplicação de 600 MPa durante 1 minuto.

No caso da mentona, há uma tendência para uma diminuição da sua libertação com o aumento do tempo de tratamento de HPP. O terpinoleno revelou diferenças significativas para ambos os tratamentos aplicados, observando-se um decréscimo de quase 50% neste composto no tratamento aplicado por 240 segundos.

No presente estudo, verificou-se um aumento significativo da libertação do aldeído 2,4-nonadienal com a aplicação do tratamento de altas pressões mais longo. Analogamente um estudo realizado aos compostos de aroma de sumo de pepino (Zhao *et al.*, 2013) mostra que quando este produto foi sujeito a tratamentos de HHP cujas pressões aplicadas foram 400 e 500 MPa durante 4 e 2 minutos, respetivamente, se observa um aumento do teor do isómero 2,6-nonadienal em ambos os tratamentos.

Em relação aos restantes compostos, a sua deteção no *headspace* não se alterou, como é exemplo disso a γ -decalactona. Este resultado encontra-se em consonância com o apresentado no estudo realizado por Navarro *et al.* (2002), no qual a quantidade de lactona presente em puré de morango tratado a 400 MPa durante 20 minutos (a 20°C), também não sofreu alterações em relação ao puré não processado por HHP.

No presente estudo os compostos 3-careno e decanal apresentam-se inalterados com a aplicação dos tratamentos HHP. Distintamente no estudo feito por Sampedro *et al.* (2009) a uma bebida de laranja e leite, foi observado que estes compostos sofreram um aumento de 5-20% e 60% respetivamente, quando se utilizaram pressões hidrostáticas de 450 a 650 MPa combinadas com uma temperatura de 30°C. Estes últimos resultados encontram-se em concordância com o descrito num outro estudo de sumos/batidos de fruta (Keenan *et al.*, 2012), no qual se observou um aumento do terpeno 3-careno após a aplicação de pressões hidrostáticas de 450-550 MPa durante 15 minutos, a 20°C.

Os resultados diferentes obtidos no presente estudo, podem dever-se à temperatura usada durante a aplicação dos tratamentos. Enquanto nos últimos dois estudos referidos a temperatura utilizada foi de 30 e 20°C, respetivamente, no presente trabalho o processamento foi realizado a uma temperatura muito inferior, 6°C. Atendendo aos teores constantes dos compostos 3-careno e decanal, obtidos neste estudo, o uso de uma temperatura baixa aquando da aplicação do tratamento HHP parece ter tido um efeito positivo. Por outro lado, é necessário ter em conta que as matrizes estudadas apresentam grandes diferenças, designadamente as do presente estudo que consistem em géis, face às dos estudos referidos que são líquidos.

Na teoria, os tratamentos por altas pressões hidrostáticas devem à partida ter um impacto reduzido em moléculas pequenas, tais como os compostos voláteis associados à qualidade sensorial dos produtos alimentares. Contudo, este facto nem sempre é observado, estudos têm demonstrado que a aplicação de HHP pode diminuir ou aumentar a ocorrência de reações envolvidas na formação e degradação de compostos de aroma, sendo que também se presume que este processo possa facilitar a libertação de compostos voláteis que se encontram ligados à matriz do produto antes do processamento (Keenan *et al.*, 2012). Como foi observado, na Figura 36, o tratamento HHP mais longo aumentou e diminuiu, respetivamente, a libertação dos compostos γ -octalactona e mentona.

Para a avaliação do impacto dos tratamentos térmicos (TT) nos compostos voláteis as barras com revestimento foram sujeitas a duas condições de tempo e temperatura: 80 e 90°C com

os tempos de aplicação 2 e 5 minutos, consistindo assim em tratamentos térmicos moderados. Os resultados obtidos encontram-se nas figuras 37 e 38.

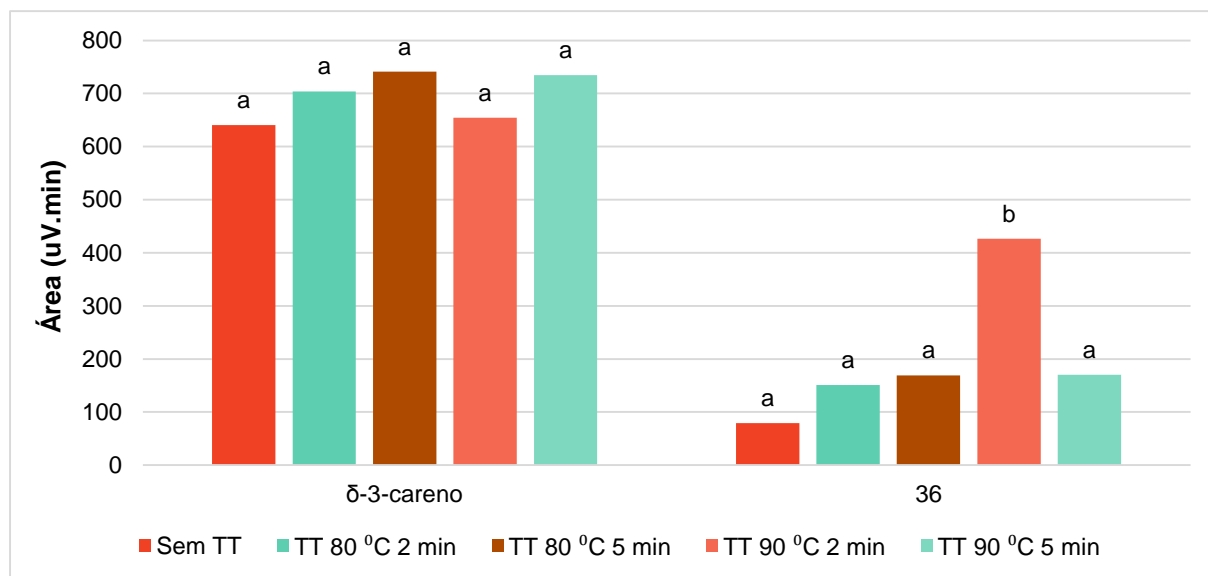


Figura 37 - Impacto dos tratamentos térmicos nos compostos voláteis da barra texturizada com revestimento (I).

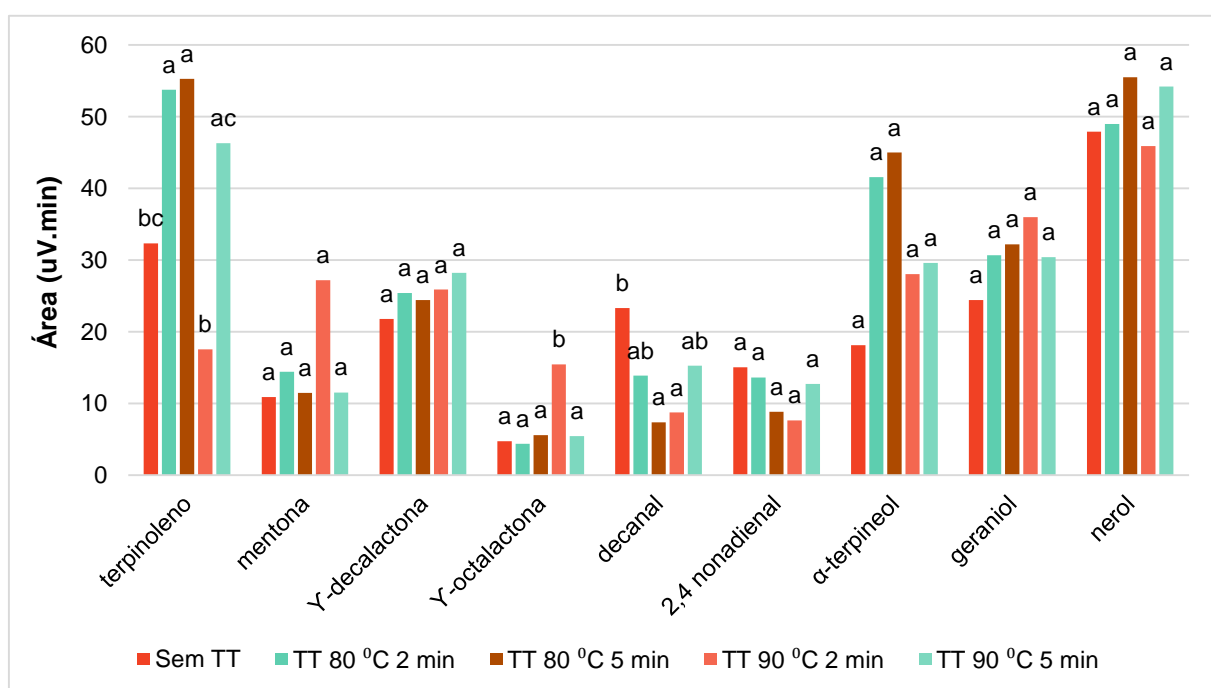


Figura 38 - Impacto dos tratamentos térmicos nos compostos voláteis da barra texturizada com revestimento (II).

No geral podemos ver que os tratamentos térmicos para as condições estudadas, não causaram impacto nos teores dos compostos voláteis. Para mais de metade dos compostos avaliados, os tratamentos térmicos aplicados não provocaram diferenças significativas entre a quantidade de composto detetado nas amostras sem tratamento e com tratamento.

Ainda assim, verificaram-se algumas variações. No caso do terpinoleno, observou-se uma tendência para uma maior quantidade detetada no *headspace* nas amostras tratadas termicamente. Para a γ -octalactona e para o composto 36, o tratamento que originou uma maior libertação foi o de 90°C durante 2 minutos.

Para o caso do decanal este apresenta diferenças na aplicação dos tratamentos de 85°C durante 5 minutos e de 90°C durante 2 minutos. Foi relatado na bibliografia que este composto (decanal) presente num sumo de laranja e leite (Sampedro *et al.*, 2009), apresentou uma perda de 25-30%, quando o produto foi sujeito a um tratamento de 80-90°C durante 1 minuto. Já no presente estudo esta diminuição superou os 50%, o que não parece desapropriado uma vez que se utilizaram tempos de tratamento superiores. No mesmo estudo o terpeno 3-careno presente no sumo apresentou uma diminuição de 45-50% nas mesmas condições, contrariamente ao que foi obtido neste estudo onde o seu teor se manteve constante com a aplicação dos tratamentos térmicos.

De modo semelhante também o teor dos álcoois se manteve constante com a aplicação dos tratamentos térmicos, analogamente, num estudo realizado em sumo de laranja (Baxter *et al.*, 2005), o teor de α -terpineol deste também não registou alterações com a aplicação de um tratamento térmico de 85°C durante 25 segundos.

Como já referido as diferenças de resultados apresentados entre o presente estudo e os estudos referidos podem dever-se à natureza das matrizes analisadas, pois a maioria dos estudos apresentados com os quais foi feita uma comparação, são referentes a líquidos/bebidas.

Seria expectável que o tratamento térmico que causasse mais alterações nos compostos voláteis fosse o de temperatura mais alta e tempo de aplicação mais longo, portanto 90°C durante 5 minutos. Contudo, de acordo com os resultados, cada composto reagiu de modo independente a cada tratamento, não havendo assim uma tendência clara do efeito de cada tratamento e condição no perfil volátil da barra de manga, podendo-se concluir que estes tratamentos são muito semelhantes entre si e não causam efeitos muito intensos nos compostos. Comparativamente ao efeito do tratamento para a inativação de enzimas, realizado a 85°C durante 20 segundos no puré de manga fresco, esse binómio tempo-temperatura, apesar de intermédio, parece ter causado um impacto ligeiramente superior nos compostos voláteis. Tendo este TT sido o primeiro tratamento aplicado não é desapropriado que tenha tido resultados mais danosos. Todavia estes resultados podem também dever-se ao facto de os compostos se encontrarem mais expostos no puré de manga. Por justaposição

a matriz de gel criada pelo gelano e o revestimento aplicado parecem ter oferecido alguma proteção aos compostos de aroma presentes na barra texturizada, como seria expectável.

Os tratamentos por altas pressões e os tratamentos térmicos revelaram um efeito muito semelhante e pouco significativo no perfil volátil da barra de manga texturizada. Tal como fundamentado na bibliografia, seria expectável que existissem resultados díspares para os dois tratamentos aplicados. Contudo neste estudo foi aplicado um tratamento térmico para inativação de enzimas no puré de manga no início da formulação das barras, ou seja, aquando da aplicação dos dois tratamentos de conservação estas amostras já tinham sido sujeitas a um tratamento térmico e nos estudos bibliográficos apresentados foram analisadas matrizes sem qualquer tratamento prévio.

Porém, decidiu-se comparar os tratamentos com as condições mais suaves, isto é, 500 MPa durante 2 minutos e 80°C durante 2 minutos.

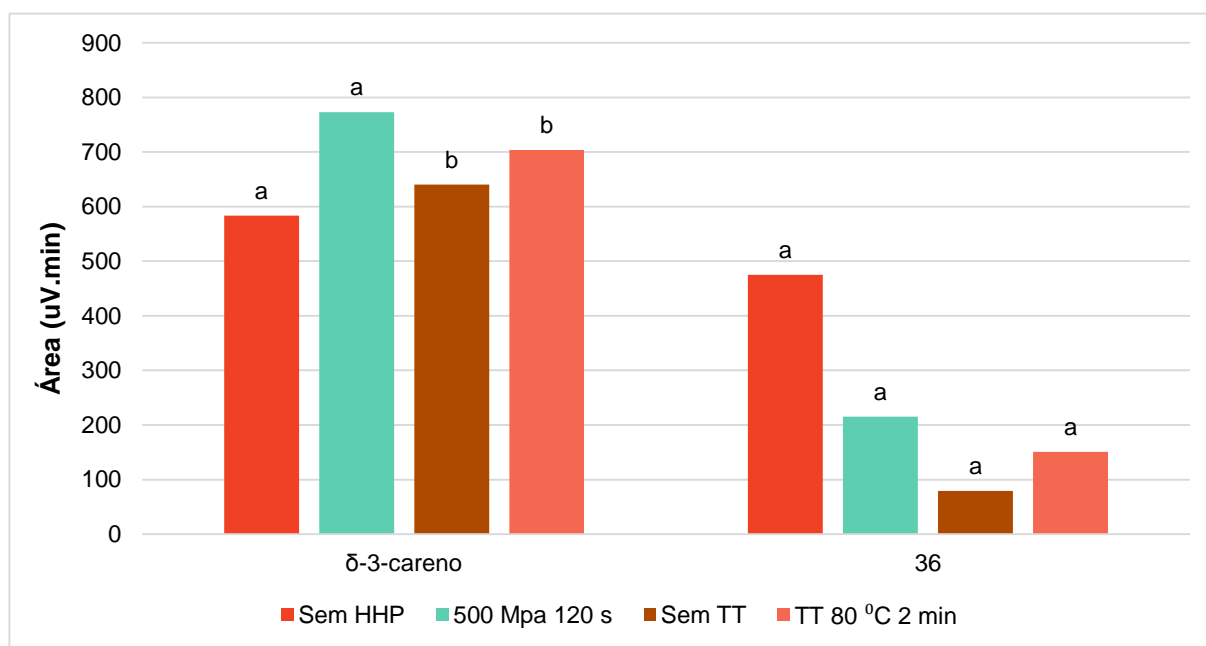


Figura 39 - Comparação do impacto dos tratamentos HHP 500 MPa e TT 80°C - 2 min (I).

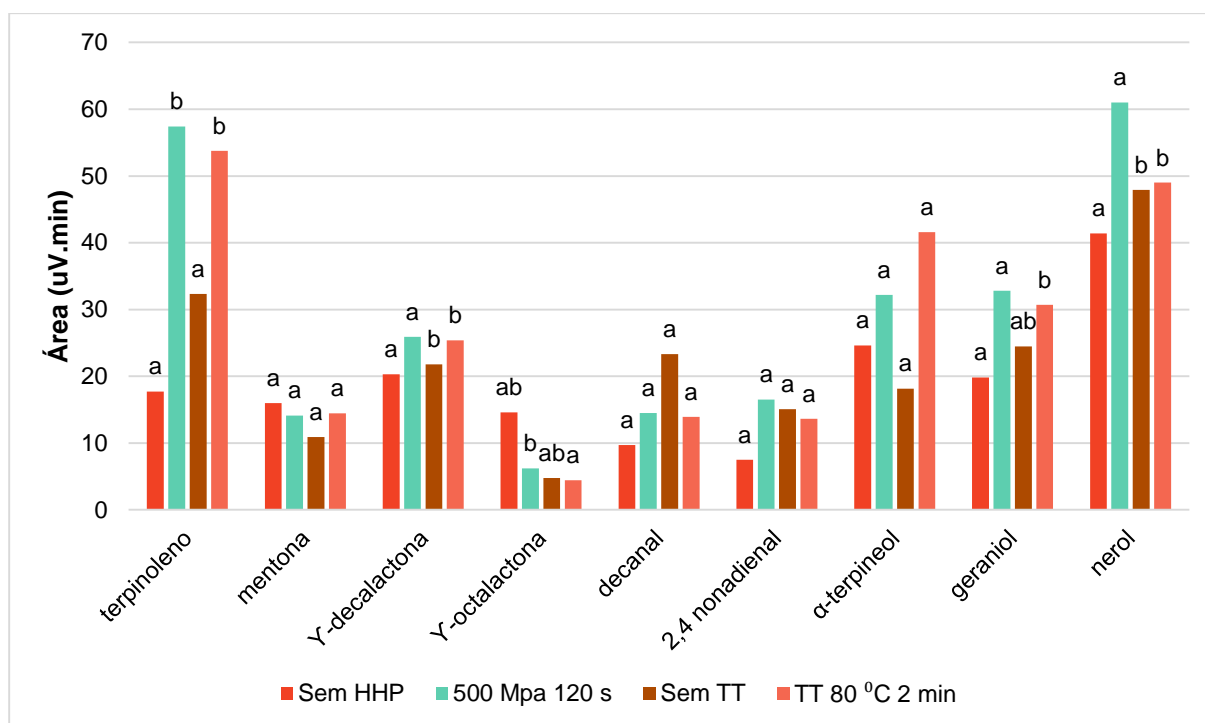


Figura 40 - Comparação do impacto dos tratamentos HHP 500 MPa e TT 80°C - 2 min (II).

O terpinoleno é o único composto para o qual ambos os tratamentos tiveram como consequência uma maior libertação face à registada nas amostras sem tratamento, sendo esse aumento na libertação semelhante em ambos os tratamentos. Para os restantes compostos não se observaram diferenças significativas com a aplicação de cada tratamento.

Pode-se declarar que os tratamentos aplicados (HHP e TT) têm um impacto reduzido nos compostos de aroma. Deve denotar-se, no entanto, que não é possível afirmar se o *flavour* das barras texturizadas de manga foi ou não alterado, pois mesmo uma alteração pequena na concentração de um composto pode ter efeitos muito acentuados no *flavour* geral do produto alimentar (Keenan *et al.*, 2012). Com o fim de se perceber se o *flavour* da barra texturizada sofre alterações com a aplicação destes tratamentos de conservação, seria necessária a realização de uma análise sensorial com um painel de provadores treinados. Tal como realizado por Laboissière *et al.* (2007) num estudo sobre o impacto das altas pressões hidrostáticas em sumo de maracujá. O painel de provadores analisou sumo de maracujá fresco, sumo de maracujá pressurizado (300 MPa durante 5 min, a 25°C) e 5 sumos de maracujá tratados termicamente (condições não mencionadas). O painel conseguiu distinguir a totalidade dos sumos tratados termicamente através da análise sensorial, e concluiu-se que o tratamento de altas pressões hidrostáticas não causou modificações significativas ao nível dos compostos responsáveis pelo aroma, *flavour* e consistência do sumo de maracujá, ao

contrário dos tratamentos térmicos. Seria importante fazer uma mesma abordagem para as barras texturizadas de manga.

4.5.2. Efeito na carga microbiológica

Após os tempos de incubação procedeu-se à contagem de colónias de mesófilos e fungos e leveduras em todas as amostras. Estes encontram-se descritos na tabela 8 com as unidades ufc/g (unidades formadoras de colónias por grama de produto), onde apenas se apresenta o valor de contagem mais alto para cada amostra. A existência de duas amostras controlo, deve-se ao facto de terem sido utilizadas duas matérias-primas (purés de manga) diferentes, uma para o estudo de altas pressões hidrostáticas e outra para os tratamentos térmicos.

Tabela 8 - Resultados microbiológicos: Contagem de colónias

Amostras	Resultado de mesófilos (contagem x fator diluição)	Resultado de colónias de fungos e leveduras
Sem HHP (controlo)	< 10 ufc/g	< 100 ufc/g
HHP 500 MPa 120 s	< 10 ufc/g	< 100 ufc/g
HHP 500 MPa 240 s	< 10 ufc/g	< 100 ufc/g
Sem TT (controlo)	$4,5 \times 10^2$ ufc/g	< 100 ufc/g
TT 80°C – 2min	$0,5 \times 10^1$ ufc/g	< 100 ufc/g
TT 80°C – 5min	1×10^2 ufc/g	< 100 ufc/g
TT 90°C – 2min	$1,5 \times 10^2$ ufc/g	< 100 ufc/g
TT 90°C – 5min	< 10 ufc/g	< 100 ufc/g

Relativamente aos fungos e leveduras não foram contabilizadas quaisquer colónias em todas as amostras, obtendo se assim um resultado inferior a 100 ufc/g, o que é muito satisfatório tendo em conta que a presença destes microrganismos pode constituir um indicador de

condições higiénicas insuficientes e de contaminação elevada no produto. Já a contagem de mesófilos, também é um indicador de qualidade higiénica, sendo que a presença de mesófilos indica matérias-primas contaminadas, limpeza de superfícies e higiene na produção inadequada ou condições de produção inadequadas (Ferreira, 2010). Contudo em produtos facilmente perecíveis (frescos ou refrigerados) números elevados têm pouco significado uma vez que podem existir inúmeras explicações.

Para a amostra controlo do tratamento de altas pressões hidrostáticas e para ambas as condições deste tratamento, as contagens de mesófilos foram inferiores a 10 ufc/g, encontrando-se em conformidade com um estudo realizado por Guerrero-Beltrán *et al.* (2006), onde não foi contabilizado crescimento microbiano (< 10 ufc) em puré de manga, após este ser tratado a 483 MPa e 552 MPa durante 1, 3 e 5 minutos, condições semelhantes às utilizadas neste trabalho laboratorial.

Já para as amostras dos tratamentos térmicos obtiveram-se contagens, contudo apenas a amostra controlo (amostra sem qualquer tratamento) obteve uma colónia acima das 25, por norma apenas se faz a contagem de placas com colónias acima de 25 e inferiores a 300, o que indica que os resultados obtidos são irrelevantes indicando um produto estável.

Para este tipo de produto considera-se não satisfatório valores acima de 10^6 (Santos *et al.*, 2005). Dada a contagem mais elevada obtida ter sido $4,5 \times 10^2$ ufc/g na barra sem tratamento, este produto encontra-se razoavelmente abaixo do limite, indicando uma boa qualidade microbiológica sem a aplicação de tratamentos de conservação. Este resultado bastante favorável pode dever-se ao tratamento térmico para inativação de enzimas (85°C/20s) realizado ao puré de manga no início do processamento da barra texturizada de manga, revelando que esta é suficiente para controlar a atividade microbiana deste produto. No entanto podemos observar que os tratamentos térmicos reduzem consideravelmente as contagens microbiológicas, sendo portanto eficazes no controlo microbiológico. Visto a barra texturizada de manga ter revelado ser um produto microbiologicamente estável o tratamento para inativação de enzimas e/ou os tratamentos com as condições mais suaves são suficientes para controlar as possíveis contaminações microbiológicas deste produto.

5. Conclusões finais

O tratamento térmico aplicado para a inativação de enzimas do puré de manga (binómio 85°C/20s) tem como consequência um decréscimo no conteúdo dos compostos voláteis, sendo porém um decréscimo pouco acentuado.

A matriz criada pela adição de 1% de gelano e da gelificação do mesmo no puré de manga inativado, possui um comportamento muito semelhante ao do puré inativado, no que diz respeito à libertação dos compostos voláteis durante o armazenamento a 5°C. Este facto revela-se vantajoso no sentido de não prejudicar o aroma geral da manga e, portanto, a barra texturizada aparenta-se ao fruto fresco no momento de degustação. No entanto, no que diz respeito à manutenção e prolongamento do aroma por um maior período de tempo no produto em questão, mostrou-se ineficaz.

O revestimento de gelano aplicado na área superficial da barra texturizada apresentou uma certa retenção para um escasso número de compostos voláteis, porém, no geral os compostos comportaram-se de modo análogo na barra sem e com revestimento. Mais uma vez pode ser positivo no aspeto do aroma, reproduzindo o aroma do fruto fresco, mas revela-se ineficiente na preservação do aroma durante uma conservação mais extensa.

No que diz respeito ao impacto dos tratamentos de conservação aplicados (HHP e TT) no perfil de aroma da barra texturizada de manga, ambos se mostram semelhantes e causaram efeitos pouco consideráveis. Ainda assim, quando se comparam os tratamentos entre si, as altas pressões hidrostáticas mostraram-se menos invasivas, sendo que os tratamentos térmicos revelaram efeitos mais acentuados no teor dos compostos voláteis investigados.

Microbiologicamente o produto mostrou-se estável sem a aplicação de tratamentos de conservação, levando a crer que o tratamento para inativação de enzimas é suficiente para o controlo microbiológico. Com os dados obtidos neste trabalho os tratamentos com as condições mais suaves são suficientes para o controlo microbiológico, todavia sugere-se, por uma questão económica, o uso do tratamento térmico mais baixo, 80°C durante 2 minutos, uma vez que possui resultados em muito semelhantes ao das altas

pressões hidrostáticas que constitui uma técnica recente, inovadora e pouco económica.

Todavia seria necessária uma análise sensorial, realizada por um painel de provadores experientes, com o intuito de avaliar o efeito de cada tratamento no *flavour* da barra texturizada.

6. Sugestões de trabalho futuro

No futuro deveriam ser realizadas análises em GC com espectrofotómetro de massa, de modo a identificar com mais certeza os compostos avaliados neste trabalho (e possivelmente, um maior número de compostos). Seria ainda essencial realizar um maior número de amostras de modo a obter uma maior reprodutibilidade dos resultados obtidos para os parâmetros estudados.

A otimização do processo de análise poderá ser mais aprofundada, com o intuito de melhorar o sinal obtido nos cromatogramas. Nomeadamente com a utilização de outras fibras para a adsorção dos compostos voláteis.

Complementarmente, deviam ser estudados e utilizados métodos de quantificação de compostos, como por exemplo o uso de padrões internos ou soluções padrão aquosas. Estes métodos não foram realizados no presente estudo devido à complexidade do processo de elaboração das amostras e também pelo facto de uma solução aquosa não representar fielmente o equilíbrio entre a fase de vapor e a barra texturizada.

Seria também vantajoso efetuar análises sensoriais em paralelo, com o fim de perceber se o *flavour* é de facto afetado a nível sensorial, pelo armazenamento e pelos tratamentos de conservação aplicados. Seria útil também avaliar, através de uma análise sensorial, se o gelano possui a excelente capacidade de libertação de aroma, reportada por vários estudos, após a mastigação do produto em questão. E, adicionalmente, se essa capacidade diminui com o tempo de armazenamento da barra texturizada de manga.

Complementarmente, deveriam ser realizados estudos reológicos, com os mesmos tempos de armazenamento (9 dias) ou superiores, para a barra texturizada sem e com revestimento comestível, com o fim de se perceber, se de facto a matriz sofre alterações com o tempo, justificando os dados obtidos para a libertação dos compostos voláteis, no presente trabalho.

7. Referências bibliográficas

- Andrade, E. H. A., Maia, J. G. & Zoghbi, M. G. B. (2000). Aroma Volatile Constituents of Brazilian Varieties of Mango Fruit. *Journal of food composition and analysis*, 13, 27-33.
- Bajaj, I. B., Survase S. A., Saudagar, P. S. & Singhal, R. S. (2007). Gellan Gum: Fermentative Production, Downstream Processing and Application. *Food Technology Biotechnology*, 45, 341-354.
- Baxter, I. A., Easton, K., Schnnebeli, K. & Whitfield, F.B. (2005). High pressure processing of australian navel Orange juices: sensory analysis and volatile flavour profiling. *Innovative food science and emerging technologies*, 6, 372-387.
- Beaulieu, J. C. & Lea, J. M., (2003). Volatile and quality changes in fresh-cut mangos prepared from firm-ripe and soft-ripe fruit, stored in clamshell containers and passive MAP. *Postharvest Biology and Technology*, 30, 15-28.
- Belitz, H. D., Grosch, W. & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry* (4th ed). Berlin, Springer, 340-342.
- Buckow, R., Weiss, U. & Dietrich, K. (2009). Inactivation kinetics of apple polyphenol oxidase in different pressure-temperature domains. *Innovative food science and emerging technologies*, 10, 441-448.
- Cardeal, Z. L., Guimarães, E. M. & Parreira, F.V. (2005). Analysis of volatile compounds in some typical Brazilian fruits and juices by SPME-GC method. *Food additives and contaminants*, 22, 508-513.
- Chandrasekaran, R. & Radha A. (1995). Molecular architectures and functional properties of gellan gum and related polysaccharides. *Food science & Technology*, 6, 143-148.
- Chauhan, O. P., Raju, P.S & Bawa, A.S. (2010). Mango Flavor. In: Hui, Y. H. (ed), *Handbook of fruit and vegetable flavors*. Hoboken, John Wiley & Sons, Inc., 319-340.
- Chien, P., Sheu, F. & Yang, F. (2007). Effect of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*, 78, 225-229.
- Ciobanu, A., Mallard, I., Landya, D., Brabie, G., Nistor, D. & Fourmentin, S. (2012). Inclusion interactions of cyclodextrins and crosslinked cyclodextrin polymers with linalool and camphor in *Lavandula angustifolia* essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 87 (3), 1963-1970.

Cp Kelco (2007). *KELCOGEL Gellan Gum Book* (5th ed), Mumbai.

Faraoni, A. S., Ramos, A. M., Stringheta & Laureano, J. (2008). Efeito dos Métodos de Conservação, Tipos de Embalagem e Tempo de Estocagem na Coloração de Polpa de Manga “Ubá” Produzida em Sistema Orgânico. *Revista Ceres*, 55 (6), 504-511.

Ferreira, M. M. (2010). *Textos de apoio*. Bioquímica e microbiologia dos alimentos. Instituto Superior de Agronomia.

Given, Jr. & H., Arciszewski (1989). *Fruit-containing Confectionary Bar*. United States Patent Office 4 888 187.

Guerrero-Beltrán, J. A., Barbosa-Cánovas, G. V. B., Moraga-Ballesteros, G., Moraga-Ballesteros, M. J. & Swanson, B. G. (2006). Effect of pH and ascorbic acid on high hydrostatic pressure-processed mango puree. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30, 582–596.

Hadi, M. A. E., Zhang, F., Wu, F., Zhou, C. & Tao, J. (2013). Advances in Fruit Aroma Volatile Research. *Molecules*, 18, 8200-8229.

Haleva-Toledo, E., Naim, M., Zehavi, U. & Rouseff, R.L. (1999). Formation of α -terpineol in Citrus Juices, Model and Buffer Solutions. *Journal of food science*, 64 (5), 838-841.

Hiremath, N. D. & Ramaswamy, H.S. (2011). High-pressure destruction kinetics of spoilage and pathogenic microorganisms in mango juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 36, 113-125.

Ibáñez, E., López-Sebastián, S., Ramos, E., Tabera, J. & Reglero, G. (1998). Analysis of volatile fruit components by headspace solid-phase microextraction. *Food Chemistry*, 63 (2), 281-286.

ISO 4833:2003. *Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes — Technique par comptage des colonies à 30 °C*.

Jacobo-Velazquez, D. A., Ramos-Parra, P. A. & Hernandez-Brenes, C. (2010). Survival Analysis Applied to the Sensory Shelf-Life Dating of High Hydrostatic Pressure Processed Avocado and Mango Pulps. *Journal of Food Science*, 75 (6), 286-281.

Jennings, W., Mittlefehldt, E. & Stremple, P. (1997). *Analytical Gas Chromatography* (2nd Ed). San Diego, Academic Press, (Chapter 1 & 3).

- Keenan, D. F., Brunton, N.P., Mitchell, M., Gormley, R. & Butler, F. (2012). Flavour profiling of fresh and processed fruit smoothies by instrumental and sensory analysis. *Food Research International*, 45, 17-25.
- Koliandris, A., Lee, A., Ferry, A., Hill, S. & Mitchell, J. (2008). Relationship between structure of hydrocolloid gels and solutions and flavor release. *Food Hydrocolloids*, 22, 623-630.
- Koubala, B. B., Kansci, G., Mbome, L. I., Crépeau, M. J., Thibault, J. F. & Ralet, M. C. (2008). Effect of extraction conditions on some physicochemical characteristics of pectins from “Améliorée” and “Mango” mango peels. *Food Hydrocolloids*, 22, 1345–1351.
- Laboissière, L.H.E.S., Deliza, R., Barros-Marcellini, A.M., Rosenthal, A., Camargo, L. M. A. Q. & Junqueira, R. G. (2007). Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on sensory characteristics of yellow passion fruit juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8, 469 – 477.
- Lalel, H. J. D., Singh Z. & Tan, S.C. (2003). Aroma volatiles production during fruit ripening of “Kensington Pride” mango. *Postharvest Biology and Technology*, 27, 323-336.
- Landl, A., Abadias, M., Sárraga, C., Viñas, I. & Picouet, P. A. (2010). Effect of high pressure processing on the quality of acidified Granny Smith apple purée product. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 557 – 564.
- León, P. G. & Rojas, A.M. (2007). Gellan gum films as carriers of L-(+)-ascorbic acid. *Food Research International*, 40, 565–575.
- Li, Z., Wang, N., Raghavan G.S. & Vigneault, C. (2009). Ripeness and rot evaluation of “Tommy Atkins” mango fruit through volatiles detection. *Journal of Food Engineering*, 91, 319-324.
- Liu, F., Fu, S. F., Bi, X. F., Chen, F., Liao, X. J., Hu, X. S. & Wu, J. H. (2013). Physico-chemical and antioxidant properties of four mango (*Mangifera indica* L.) cultivars in China. *Food Chemistry*, 138, 396-405.
- Lopes, M. L. M., Mesquita, V. L. V., Chiaradia, A. C. N., Fernandes, A. A. R. & Fernandes, P. M. B. (2010). High-Pressure Bioscience and Biotechnology High hydrostatic pressure processing of tropical fruits Importance for maintenance of the natural food properties. *Annals of the New York academy of sciences*, 1189, 6-15.

- Malundo T.M.M., Shewfelt R.L., Ware G.O. & Baldwin E.A. (2001). Sugars and Acids Influence Flavor Properties of Mango (*Mangifera indica*). *Journal American Society for Horticultural Science*, 126, 115-121.
- Malundo, T. M. M., Baldwin E. A., Moshonas, M.G., Baker, R. A. & Shewfelt, R. L. (1997). Method for the Rapid Headspace Analysis of Mango (*Mangifera indica* L.) Homogenate Volatile Constituents and Factors Affecting Quantitative Results. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 45, 2187-2194.
- Martins, M. M. (2011). *Textos de apoio: Tecnologia dos produtos hortofrutícolas*. Instituto Superior de Agronomia.
- McNair, H. M. & Miller, J. M. (2009). *Basic Gas Chromatography* (2nd ed). New Jersey, John Wiley & Sons Inc. (Chapter 2).
- Mendham, J., Denney, R. C., Barnes, J. D. & Thomas, M. J. K. (2002). *Vogel – Análise Química Quantitativa* (6ª ed). Rio de Janeiro, Livros técnicos e científicos Editora S.A.. 160-173.
- Morris, E. R., Nishinari K. & Rinaudo M. (2012). Gelation of gellan - A review. *Food Hydrocolloids*, 28, 373 – 411.
- Navarro, M., Verret, C., Pardon, P. & Moueffak, A. E. (2002). Changes in volatile aromatic compounds of strawberry puree treated by high pressure during storage. *High Pressure Research*, 22, 693-696.
- Norma Portuguesa 3277-1. *Contagem de bolores e leveduras a 25 °C*.
- Olivas, G. I. & Barbosa-Cánovas, G. V. (2005). Edible coatings for fresh-cut fruits. *Food science and nutrition*, 45, 657-670.
- Pandit, S.S., Chidley, H. G., Kulkarni, R. S., Pujari, K. H., Giri, A. P. & Vidya, S. (2009). Cultivar relationships in mango based on fruit volatile profiles. *Food Chemistry*, 114, 363-373.
- Parfomy, R. (2001) Fruit Crops: Mango. In: Raemaekers, R. H. (ed). *Crop Production in Tropical Africa*. Brussels, Goekint Graphics, 596-608.
- Pflanzer, S.B., Cruz, A. G., Hatanaka, C. L. & Gigante, M. L. (2008). Effect of high pressure hydrostatic processing on the physical-chemical, microbiology and nutritional features of bovine milk. *Brazilian Journal Food Technology* 11 (4), 241-251.
- Pino, J. A. & Mesa, J. (2006). Contribution of volatile compounds to mango (*Mangifera indica* L.) aroma. *Flavour and fragrance journal*, 21, 207-213.

- Pino, J. A., Mesa, J., Muñoz, Y., Martí, M. P. & Marbot, R. (2005). Volatile Components from Mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2213-2223.
- Pontes, M., Marques, J. C. & Câmara, J.S. (2009). Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-quadrupole mass spectrometry methodology for the establishment of the volatile composition of *Passiflora* fruit species. *Microchemical Journal*, 93, 1-11.
- Rahman, A. R. & Schafer, G. (1972). *Directly edible compacted and dehydrated fruit bar*. United States Patent Office 3 705 814.
- Ribeiro, S.M.R., Barbosa, L.C.A., Queiroz, J.H., Knödler, M. & Schieber A. (2008). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food Chemistry*, 110, 620-626.
- Ribeiro, S.M.R., Queiroz, J.H., Queiroz, M. E. L. R., Campos, F. M. & Pinheiro, H. M. S. (2007). Antioxidant in Mango (*Mangifera indica* L.) pulp. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62, 13-17.
- Sampedro, F., Gevecke, D. J., Fan, X. & Zhang, H. Q. (2009). Effect of PEF, HHP and thermal treatment on PME inactivation and volatile compounds concentration of an Orange juice-milk based beverage. *Innovative food science and emerging technologies*, 10, 463-469.
- Santos, M. I., Correia, C., Cunha, M. I. C., Saraiva, M. M. & Novais, M. R. (2005). *Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração*. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge e Centro de Segurança Alimentar e Nutrição.
- Schieber, A., Ullrich, W. & Carle, R. (2000). Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1, 161-166.
- Seisun, D. (2010). Introduction. In: Imeson, A. (ed), *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents*. Singapore, Blackwell Publishing Ltd., 1-10.
- Shang, C., Deng, C., Zhang, X., Chen, Z. & Hu, Y. (2002). Headspace Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of Free Volatile Compounds in Mango. *Chromatographia*, 55, 737-741.
- Sothornvit, R. & Rodsamran, P. (2008). Effect of a mango film on a quality of whole and minimally processed mangoes. *Postharvest biology and technology*, 47, 407-415.

- Stashenko, E. E. & Martínez, J. R. (2007). Sampling volatile compounds from natural products with headspace/solid-phase micro-extraction. *Journal of Biochemical and biophysical methods*, 70, 235-242.
- Sworn, G. (2000). Gellan Gum. In: Phillips, G. O. & Williams, P. A. (ed). *Handbook of hydrocolloids*. Cambridge, Woodhead Publishing Limited, 117-135.
- Tapia, M. S., Rojas-Graü, M. A., Carmona, A., Rodríguez, F. J., Soliva-Fortuny, R. & Martín-Belloso, O. (2008). Use of alginate- and gellan-based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut papaya. *Food Hydrocolloids* 22, 1493-1503.
- Tharanathan, R.N., Yashoda H.M. & Prabha, T.N. (2006). Mango (*Mangifera indica* L.), “The King of Fruits” – An Overview. *Food Reviews International*, 22, 95 – 123.
- Valli, R. & Clark, R. (2010). Gellan Gum. In: Imeson, A. (ed), *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents*. Singapore, Blackwell Publishing Ltd., 145-165.
- Varela-Santos, E., Ochoa-Martinez, A., Tabilo-Munizaga, G., Reyes, J. E., Pérez-Won, M., Briones-Labarca, M. & Morales-Castro, J. (2012). Effect of high hydrostatic pressure (HHP) processing on physicochemical properties, bioactive compounds and shelf-life of pomegranate juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 13, 13-22.
- Vidhya, R. & Narain, A. (2010). Development of preserved products (Jam and Fruit Bar) from under exploited wood apple “*Limonia acidissima*” fruits. *African Journal of Food Science and Technology* (1), 51-57.
- Vijayanand, P., Yadav A. R., Balasubramanyamb, N. & Narasimhama, P. (2000). Storage Stability of Guava Fruit Bar Prepared Using a New Process. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 33, 132-137.
- Xiaowei, M., Wu, H., Liu, L., Yao, Q., Wang, S., Zhan R., Xing, S. & Zhou, S. (2011). Polyphenolic Compounds and Antioxidant Properties in mango fruits. *Scientia Horticulturae*, 129, 102-107.
- Zhao, L., Wang, S., Liu, F., Dong, P. Huang, W., Xiong, L. & Liao, X. (2013). Comparing the effects of high hydrostatic pressure and thermal pasteurization combined with nisin on the quality of cucumber juice drinks. *Innovative food science and emerging technologies*, 17, 27-36.

ANEXOS

Anexo I

Tabela 9 - Compostos voláteis e tempos de retenção identificados.

Compostos de aroma	Tempos de retenção (min)	Compostos de aroma	Tempos de retenção (min)
α-pineno	11,93	α-terpineol	19,08
β-mirceno	13,63	2,4 - nonadienal	19,5
(+)-3-careno	14,02	Decanal	19,46
p-cimeno	14,28	Nerol	20,14
D-limoneno	14,77	γ-octalactona	20,41
Benzoato de metilo	16,07	Geraniol	20,81
Terpinoleno	16,39	γ -decalactona	25,77
Linalool	16,59	γ-undelactona	28,29
(-) Mentona	18,02		

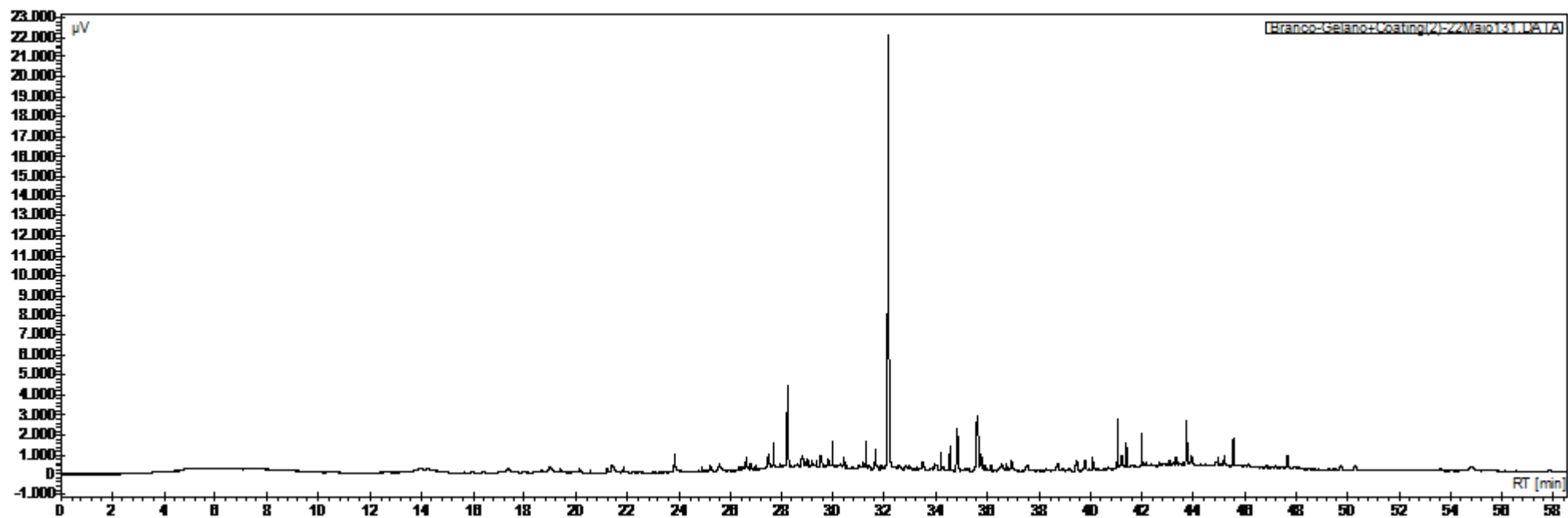
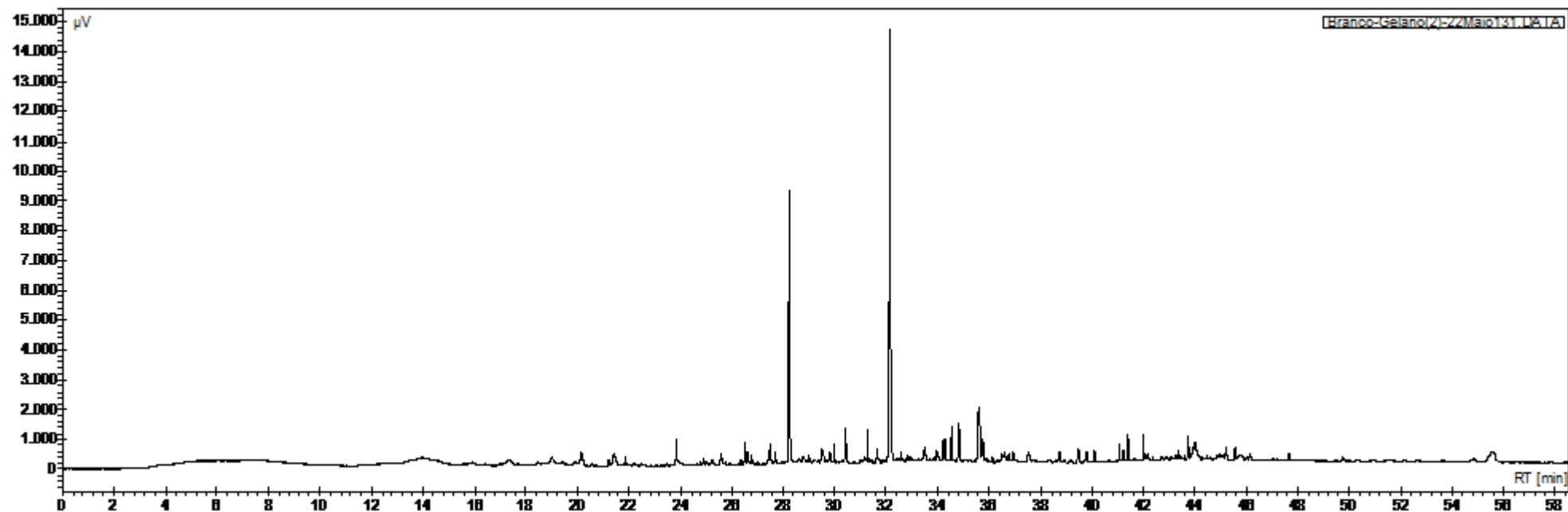


Figura 41 - Cromatogramas das amostras de gelano: gel com 1% de gelano na proporção 25/75 ba/aa (em cima) e com 1.5ml de revestimento na proporção 90/10 ba/aa (em baixo).

Anexo II

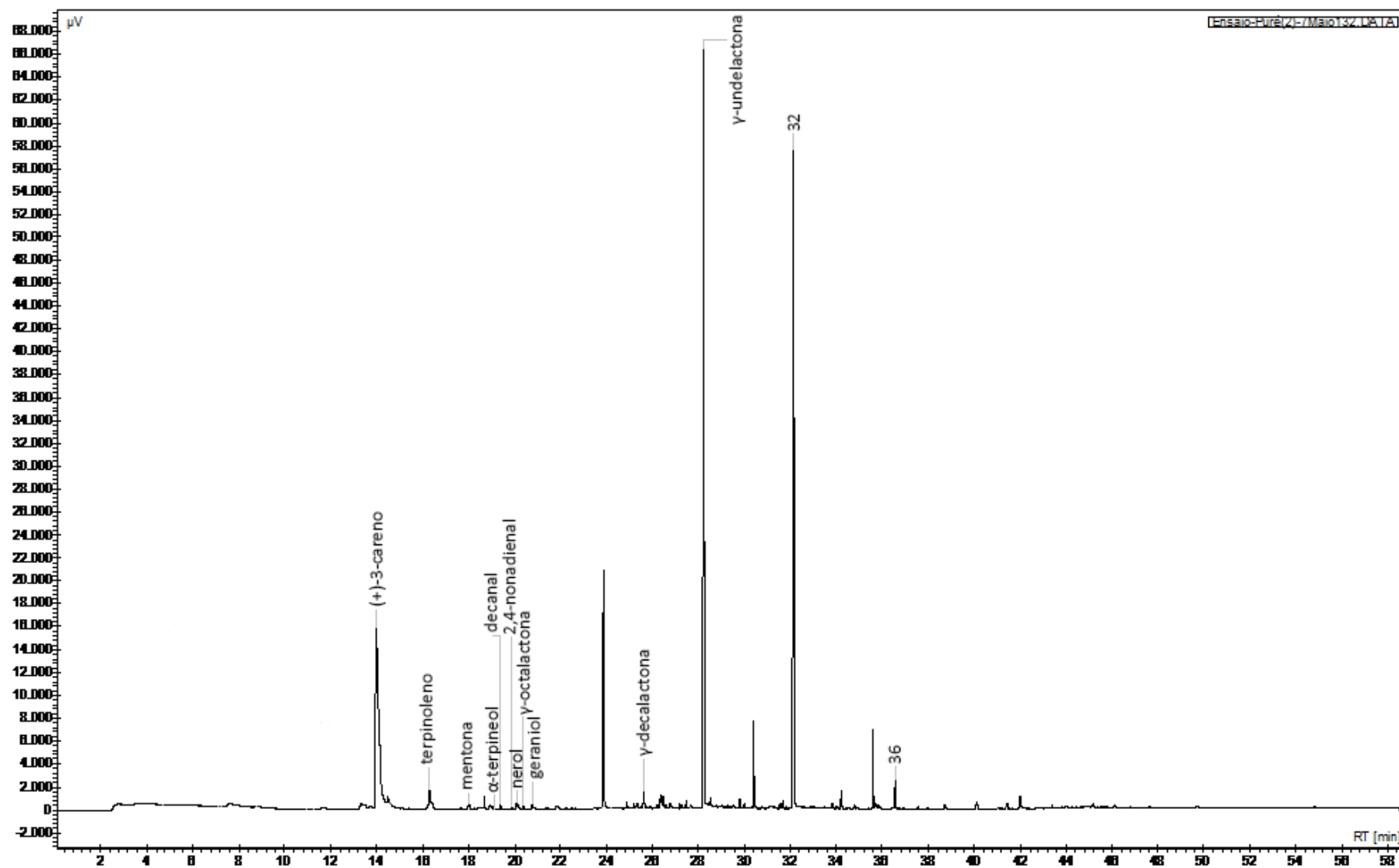


Figura 42 - Cromatograma de purê de manga fresco.

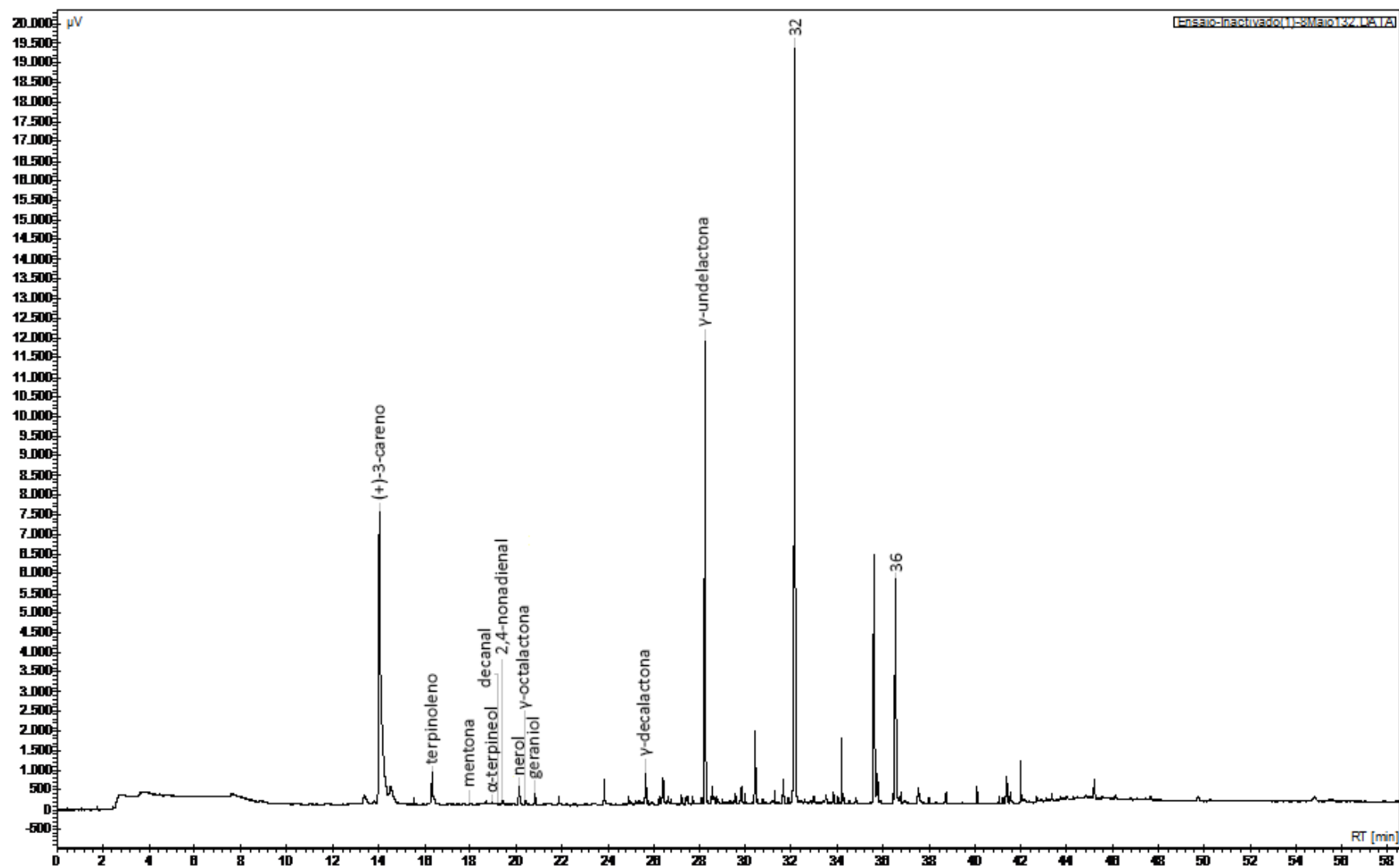


Figura 43 - Cromatograma de puré de manga inativado.

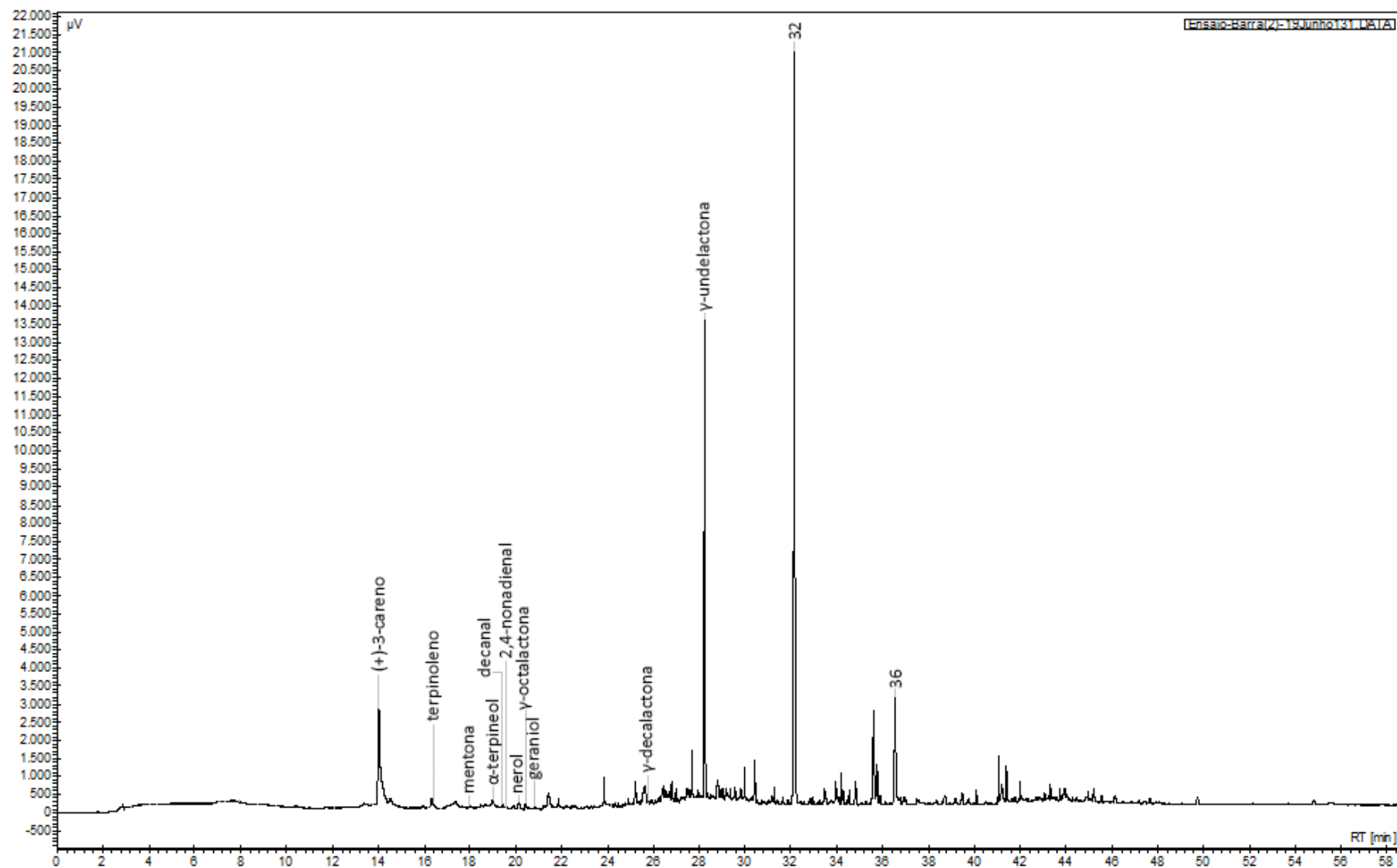


Figura 44 - Cromatograma barra sem revestimento (em frasco).

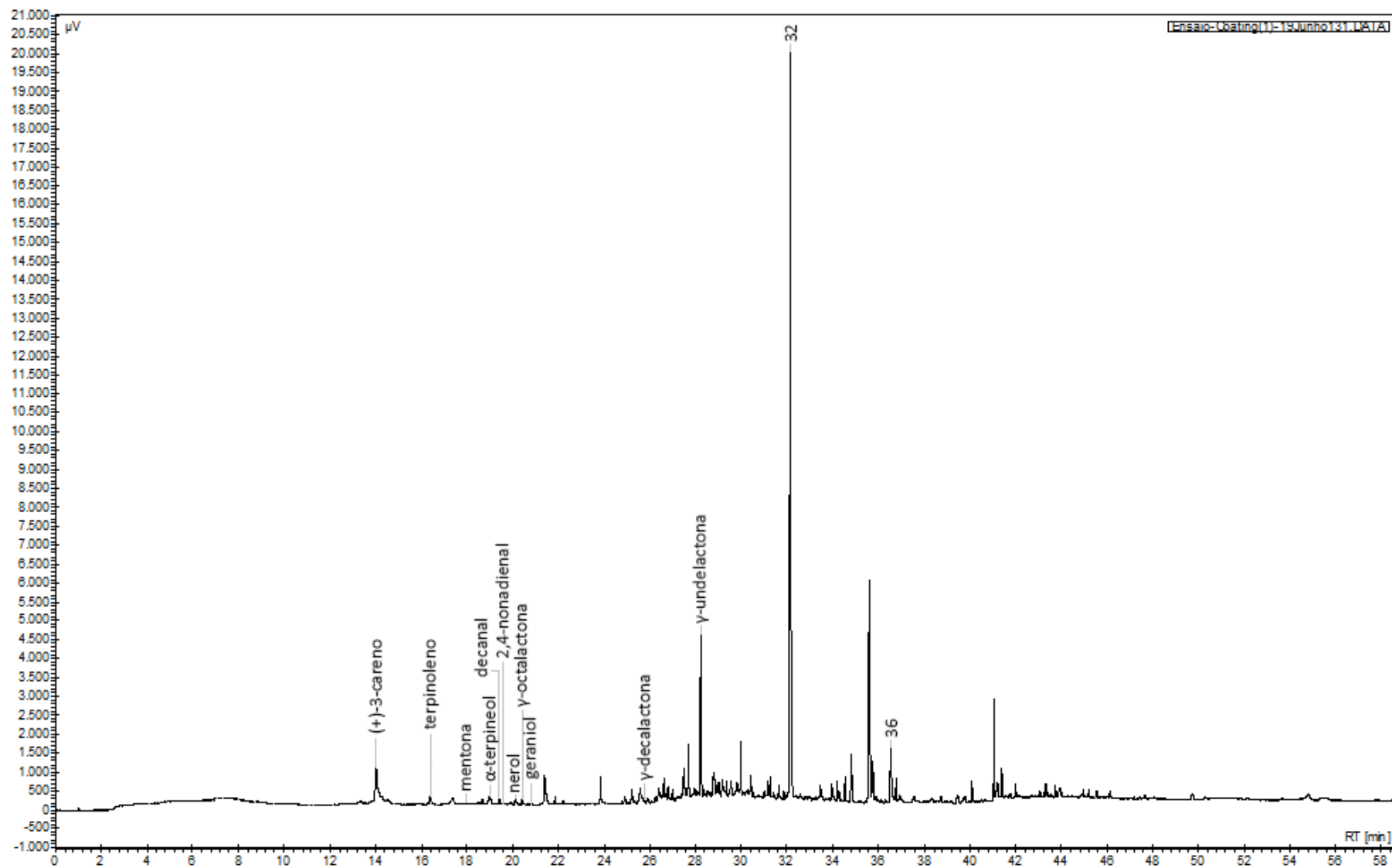


Figura 45 - Cromatograma barra com revestimento (em frasco).

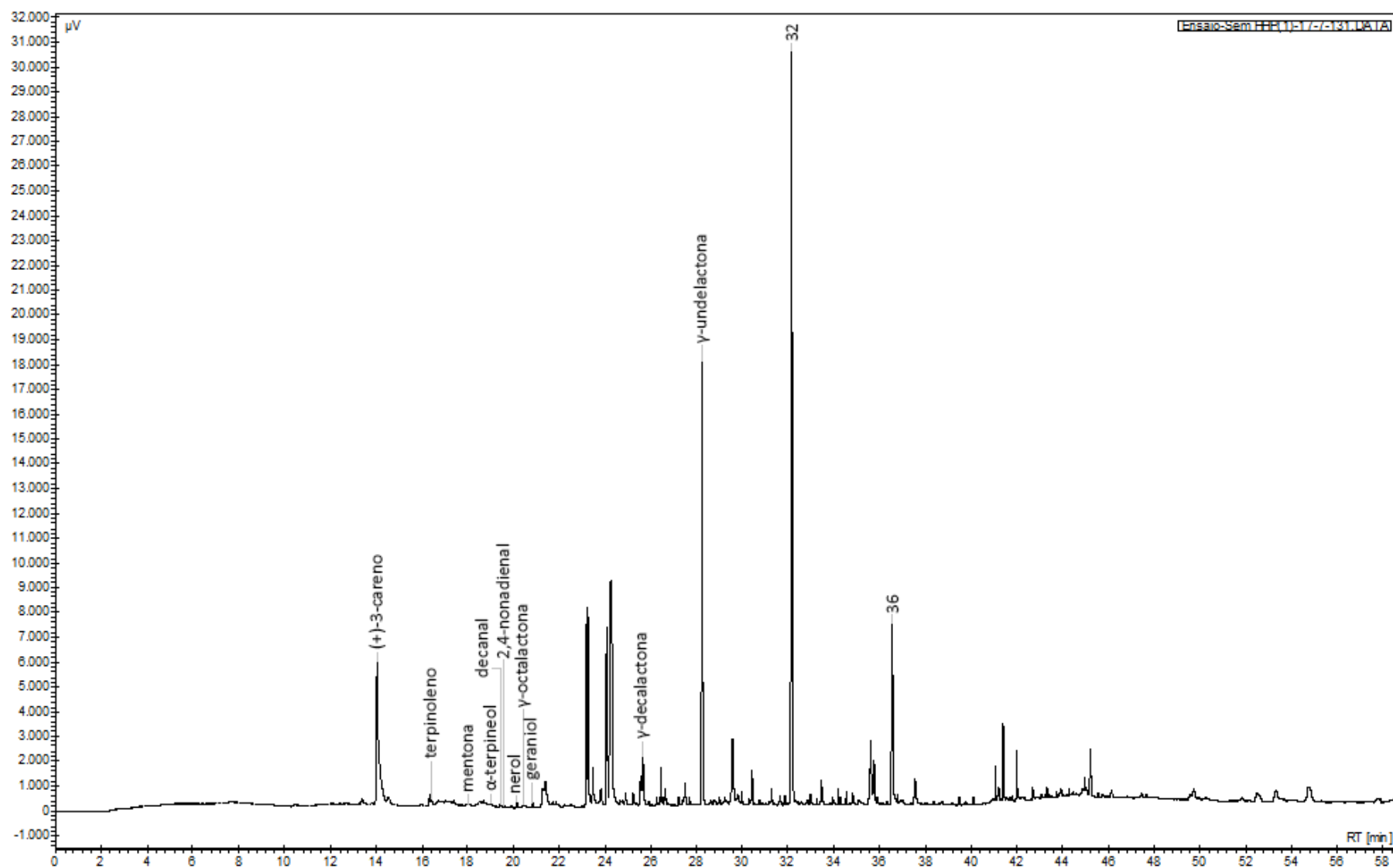


Figura 46 - Cromatograma barra convencional com revestimento.

Anexo III

Tabela 10 - Área média e desvios padrões referentes ao Puré fresco e Puré inativado.

Amostra	Puré Fresco		Puré inativado	
	Área média ($\mu\text{V}\cdot\text{min}$)	dp	Área média ($\mu\text{V}\cdot\text{min}$)	dp
δ-3-careno	1999,90	616,03	1704,15	185,33
Terpinoleno	117,55	81,95	314,15	271,32
Mentona	54,35	5,44	26,85	15,20
Y-decalactona	28,40	12,16	14,95	3,89
Y-octalactona	17,37	4,31	17,10	8,06
Decanal	25,75	4,88	47,20	47,80
2,4 nonadienal	9,25	4,74	7,35	0,49
α-Terpineol	14,96	1,34	13,00	0,57
Geraniol	34,40	6,08	40,35	14,64
Nerol	53,70	7,64	51,05	12,37
36	141,75	9,12	74,95	2,62

Anexo IV

Tabela 11 - Área média e desvios padrões referentes ao puré inativado, barra, barra sem revestimento e com revestimento.

Amostras	Puré inativado			Barra			Barra sem revestimento			Barra com revestimento		
Compostos	dia	Área média (µV.min)	dp	dia	Área média (µV.min)	dp	dia	Área média (µV.min)	dp	dia	Área média (µV.min)	dp
δ-3-careno	1	1224,05	206,40	1	27345,20	-	1	294,45	13,51	1	173,65	47,73
	2	3418,50	2667,63	2	25724,80	-	2	389,85	21,14	2	178,75	8,70
	3	1331,50	-	3	11197,25	5456,53	3	463,30	7,07	3	170,40	0,71
	6	1426,10	34,93	6	1134,10	7,50	6	493,00	-	6	166,70	5,09
	9	1516,55	35,28	9	1195,80	28,57	9	600,20	96,03	9	247,10	5,37
Terpinoleno	1	69,45	44,62	1	1907,75	1464,35	1	32,70	-	1	19,10	1,56
	2	107,60	-	2	2533,80	-	2	22,20	8,06	2	22,10	2,26
	3	2495,70	1523,89	3	1253,15	393,65	3	15,80	0,57	3	22,70	1,27
	6	117,45	15,34	6	57,15	30,76	6	25,20	-	6	22,95	7,99
	9	117,35	0,78	9	86,85	3,46	9	25,10	2,12	9	27,10	5,23
Mentona	1	11,70	4,53	1	75,20	0,99	1	16,05	4,03	1	12,15	2,05
	2	24,75	15,20	2	65,00	0,00	2	12,95	0,07	2	17,45	5,59
	3	30,60	18,81	3	70,40	5,37	3	11,70	8,63	3	14,55	0,07
	6	20,60	14,99	6	32,40	3,82	6	15,10	-	6	9,60	-
	9	10,80	3,96	9	31,00	3,68	9	7,80	-	9	14,80	-
γ-decalactona	1	7,80	1,56	1	11,85	3,32	1	13,35	8,70	1	7,45	0,07
	2	12,20	-	2	10,60	-	2	10,30	0,57	2	9,20	-
	3	18,90	5,63	3	13,20	1,84	3	11,15	2,19	3	9,70	0,28
	6	11,40	1,13	6	11,40	0,99	6	-	-	6	9,50	1,84
	9	12,50	2,26	9	12,75	0,35	9	11,30	-	9	10,90	2,12
γ-octalactona	1	9,85	0,92	1	23,25	0,92	1	11,05	1,63	1	7,95	0,64
	2	17,45	5,73	2	19,60	-	2	11,10	0,57	2	12,10	-
	3	15,40	9,19	3	19,75	4,17	3	11,80	0,00	3	9,05	0,64

	6	9,20	-	6	9,70	0,14	6	16,30	-	6	8,50	0,85
	9	9,60	0,28	9	9,20	0,42	9	13,20	1,70	9	11,35	1,63
Decanal	1	13,10	1,56	1	56,65	13,93	1	12,12	2,85	1	11,85	3,89
	2	35,65	29,91	2	61,90	-	2	13,60	1,70	2	16,45	2,33
	3	15,10	0,00	3	56,05	1,91	3	8,00	1,13	3	11,50	0,99
	6	8,75	1,91	6	8,75	0,92	6	6,90	0,00	6	12,75	4,88
	9	11,65	7,85	9	9,80	6,51	9	10,75	7,14	9	16,50	2,69
2,4 nonadienal	1	5,85	0,35	1	10,40	0,28	1	5,45	2,33	1	8,60	0,14
	2	6,75	1,77	2	7,70	0,57	2	10,15	2,33	2	6,70	-
	3	5,90	1,41	3	8,00	1,27	3	4,50	1,84	3	5,85	0,78
	6	5,30	1,41	6	8,80	0,28	6	7,35	3,46	6	6,35	1,48
	9	3,05	0,78	9	3,05	0,78	9	6,80	-	9	8,85	1,77
α -Terpineol	1	11,00	0,71	1	18,65	2,47	1	37,40	26,16	1	49,50	-
	2	9,00	3,68	2	13,30	6,65	2	28,55	7,99	2	38,95	2,47
	3	14,00	4,95	3	16,05	2,33	3	30,60	2,97	3	29,50	2,55
	6	15,69	4,79	6	16,76	0,07	6	19,45	1,06	6	21,16	1,84
	9	29,40	15,56	9	6,20	6,51	9	6,00	0,00	9	31,30	7,07
Geraniol	1	22,90	4,24	1	41,15	5,30	1	6,15	1,63	1	4,55	2,62
	2	45,55	21,14	2	37,00	-	2	10,35	1,34	2	4,10	0,00
	3	42,90	31,54	3	39,05	6,29	3	8,25	0,49	3	5,60	0,57
	6	22,10	0,28	6	19,60	0,14	6	10,50	0,99	6	7,30	0,00
	9	23,60	0,99	9	19,15	0,49	9	8,15	2,05	9	9,65	4,31
Nerol	1	35,65	5,16	1	33,20	0,99	1	18,60	2,55	1	10,80	3,82
	2	41,75	13,79	2	30,65	2,76	2	18,30	-	2	20,70	0,28
	3	47,95	20,29	3	30,20	2,12	3	14,40	0,28	3	17,40	0,71
	6	32,05	0,14	6	34,40	0,14	6	13,85	0,92	6	15,85	0,49
	9	33,35	1,48	9	31,75	1,91	9	12,95	0,64	9	16,85	3,61
36	1	213,05	150,97	1	88,60	2,69	1	447,25	350,65	1	108,90	16,26
	2	258,15	175,29	2	71,00	8,63	2	349,35	162,14	2	132,25	43,91
	3	183,05	87,61	3	63,40	6,22	3	334,30	193,04	3	97,30	13,58

	6	142,55	106,14	6	48,05	7,99	6	386,00	255,69	6	129,45	37,41
	9	125,20	102,81	9	80,15	53,25	9	333,35	222,39	9	166,60	4,24

É de referir:

- Na tabela 11 apresentam-se os resultados referentes a dois ensaios, para os quais se utilizaram duas matérias-primas diferentes:

1. Puré inativado vs barra e 2. Barra sem revestimento vs barra com revestimento.

- Algumas células dos valores de desvios padrões encontram-se vazias pois possuíam um valor elevado, abrangendo um intervalo de dados amplo que poderia representar *outliers*. Assim, sendo nesses casos foi contabilizado o valor do duplicado mais próximo da tendência dos restantes dados. Este facto deve-se à pouca reprodutibilidade das amostras realizadas, sendo o processo de formulação das mesmas um tanto complexo apenas se conseguiu realizar os ensaios em duplicado.

Tabela 12 - Área média e desvios padrões referentes aos tratamentos térmicos.

Amostras	Sem TT		TT 80°C 2 min		TT 80°C 5 min		TT 90°C 2 min		TT 90°C 5 min	
Compostos	Área média ($\mu\text{V}\cdot\text{min}$)	dp	Área média ($\mu\text{V}\cdot\text{min}$)	dp	Área média ($\mu\text{V}\cdot\text{min}$)	dp	Área média ($\mu\text{V}\cdot\text{min}$)	dp	Área média ($\mu\text{V}\cdot\text{min}$)	dp
δ-3-careno	640,3	63,78	703,75	34,58	741,1	53,46	654,3	100,27	734,95	54,09
terpinoleno	32,35	3,89	53,75	5,59	55,3	4,95	17,55	0,21	46,3	15,70
mentona	10,9	0,71	14,45	6,29	11,5	6,79	27,2	15,84	11,55	3,61
Y-decalactona	21,8	1,98	25,4	3,82	24,45	1,77	25,9	7,92	28,25	3,32
Y-octalactona	4,75	0,07	4,4	0,14	5,6	0,28	15,45	1,20	5,45	1,06
decanal	23,3	10,47	13,9	0,28	7,4	2,26	8,75	1,34	15,3	1,13
2,4 nonadienal	15,05	5,73	13,65	2,47	8,85	0,92	7,65	0,21	12,75	5,30
α-terpineol	18,15	0,07	41,6	15,27	45	0,00	28,05	4,88	29,6	3,68
geraniol	24,45	5,59	30,7	4,24	32,2	2,26	36	22,91	30,4	3,39
nerol	47,9	0,42	49	0,85	55,5	1,70	45,9	6,36	54,2	9,62
36	79,35	1,63	150,7	67,60	169	9,62	426,7	68,02	170,3	63,78

Tabela 13 - Área média e desvios padrões referentes às altas pressões hidrostáticas.

Amostras	Sem HHP		500 Mpa 120 s		500 Mpa 240 s	
Compostos	Área média (µV.min)	dp	Área média (µV.min)	dp	Área média (µV.min)	dp
δ-3-careno	860,1	33,09	956,1	50,35	916,05	26,23
terpinoleno	38,45	0,64	63,15	3,61	20,15	0,07
mentona	8,3	0,85	5,85	1,20	4,6	0,71
Y-decalactona	12,85	1,77	14,1	1,13	14,05	1,06
Y-octalactona	7,95	4,88	14,15	4,74	23,8	1,27
decanal	8,6	2,55	8,7	2,26	10	0,42
2,4 nonadienal	6,45	0,78	9,85	0,92	14,15	1,91
α-terpineol	24	18,95	31,25	13,93	38,05	0,35
geraniol	16,75	1,20	18,3	1,84	15,45	1,34
nerol	16	1,27	15	0,28	16	0,99
36	293,15	208,95	454,95	324,49	120,85	17,82

Anexo V

Tabela 14 - Teste LSD Fisher para as altas pressões hidrostáticas.

Amostras	Sem HHP	500 MPa 120 s	500 MPa 240 s
Compostos			
δ-3-careno	a	a	a
terpinoleno	b	c	a
mentona	b	ab	a
Y-decalactona	a	a	a
Y-octalactona	a	ab	b
decanal	a	a	a
2,4 nonadienal	a	a	b
α-terpineol	a	a	a
geraniol	a	a	a
nerol	a	a	a
36	a	a	a

Tabela 15 - Teste LSD Fisher para os tratamentos térmicos.

Amostras	Sem TT	80°C 2min	80°C 5 min	90°C 2 min	90°C 5 min
Compostos					
δ-3-careno	a	a	a	a	a
terpinoleno	bc	a	a	b	ac
mentona	a	a	a	a	a
γ-decalactona	a	a	a	a	a
γ-octalactona	a	a	a	b	a
decanal	b	ab	a	a	ab
2,4 nonadienal	a	a	a	a	a
α-terpineol	a	a	a	a	a
geraniol	a	a	a	a	a
nerol	a	a	a	a	a
36	a	a	a	b	a

Tabela 16 - Teste LSD Fisher para HHP 500 MPa - 120 s vs tratamento térmico 80°C - 2 min.

Amostras	Sem HHP	500 MPa 120 s	Sem TT	80°C 2min
Compostos				
δ-3-careno	a	a	b	b
terpinoleno	a	b	a	b
mentona	a	a	a	a
γ-decalactona	a	a	b	b
γ-octalactona	ab	b	ab	a
decanal	a	a	a	a
2,4 nonadienal	a	a	a	a
α-terpineol	a	a	a	a
geraniol	a	a	ab	b
nerol	a	a	b	b
36	a	a	a	a